



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



João Pessoa/PB
Agosto/2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

TESE DE DOUTORADO

NOVOS NITRATOS ORGÂNICOS DERIVADOS DE BIOMASSAS COMO POTENCIAIS FÁRMACOS CARDIOVASCULARES

MARIA CLÁUDIA RODRIGUES BRANDÃO

Tese apresentada ao Centro de Ciências Exatas e da Natureza da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Doutor em Química, área de concentração em Química Orgânica.

Orientador: Prof. Dr. Petrônio Filgueiras de Athayde Filho

João Pessoa/PB

Agosto/2017

M333n Brandão, Maria Cláudia Rodrigues.

Novos nitratos orgânicos derivados de biomassas como potenciais fármacos cardiovasculares / Maria Cláudia Rodrigues Brandão. - João Pessoa, 2017.
209 f. : il.

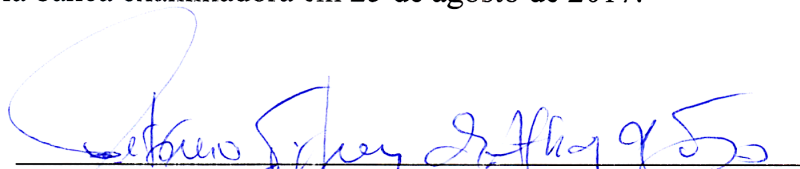
Orientação: Petrônio Filgueiras de Athayde Filho.
Tese (Doutorado) - UFPB/CCEN.

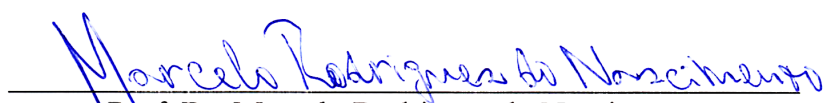
1. Química. 2. Nitratos orgânicos - Formulações. 3. Nitratos - Potencial farmacológico. I. Athayde Filho, Petrônio Filgueiras de. II. Título.

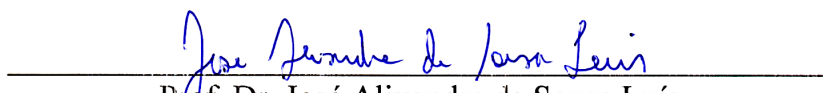
UFPB/BC

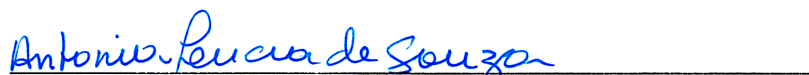
NOVOS NITRATOS ORGÂNICOS DERIVADOS DE BIOMASSAS COMO POTENCIAIS FÁRMACOS CARDIOVASCULARES

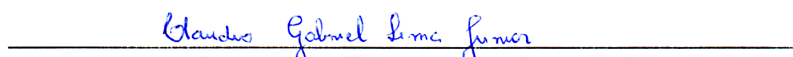
Tese de Doutorado apresentada pela aluna Maria Cláudia Rodrigues Brandão e aprovada pela banca examinadora em 25 de agosto de 2017.


Prof. Dr. Petronio Filgueiras de Athayde Filho
Orientador/Presidente


Prof. Dr. Marcelo Rodrigues do Nascimento
Examinador


Prof. Dr. José Alixandre de Sousa Luís
Examinador


Profa. Dra. Antonia Lúcia de Souza
Examinadora


Prof. Dr. Cláudio Gabriel Lima Júnior
Examinador

Dedicatória

Dedico esta Tese, com todo amor e carinho, a minha amada mãe, Zélia Brandão, que sempre me conforta em seu colo nos momentos difíceis e sempre me incentivou a seguir em frente e lutar pelos meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Não, não é simplesmente agradecer que quero. Quero trazer para dentro do meu texto aqueles que já o percorreram nas entrelinhas. E não só aos que me ajudaram efetivamente na construção dessa TESE, mas aos amigos e colegas que compartilharam comigo ideias. Àqueles que me ajudaram, de alguma forma, no percurso deste estudo e, principalmente, a seguir adiante, sem perder o que pulsa, o que vibra, agradeço imensamente.

- ❖ Agradeço a Deus, por iluminar sempre o meu caminho.
- ❖ Agradeço a minha amada filha, Lívia, por compreender a minha ausência em muitos momentos de sua vida.
- ❖ A minha querida mãe – Zélia, pelo apoio, compreensão e pelos sábios e valiosos conselhos, e a meu pai – Assis, pelo carinho e atenção.
- ❖ Aos meus irmãos que sempre torceram pelo meu sucesso, em especial a Sérgio, que me deu abrigo e sempre esteve ao meu lado em todos os momentos deste curso.
- ❖ A tia Lurdinha, por suas incessantes e poderosas orações.
- ❖ Aos meus sobrinhos por tanta alegria e inspiração.
- ❖ Aos meus cunhados e cunhadas, por acreditarem em mim. Em especial a Carla e sua mãe Marli, por abrirem as portas de sua casa para me receberem sempre com muito afeto.
- ❖ Ao Professor Dr. Petrônio Filgueiras de Athayde Filho, pela sua orientação, incentivo, confiança e por tornar possível a realização deste trabalho.
- ❖ Ao LACOM, pela sempre prontidão na realização dos testes e concessão dos materiais solicitados.
- ❖ Aos membros da banca, pelas valiosas sugestões construtivas.
- ❖ Aos professores do PPGQ, pelos valiosos ensinamentos.
- ❖ Agradeço aos amigos do LPBS, em especial a Helivaldo e Isabelle pela parceria de sempre e pelo ombro amigo em todas as horas e a minha filha adotiva Mel, por testar minha paciência diariamente e por acreditar em mim como sua tutora para os estudos e amiga para a vida. A Priscila e Roxana por toda doçura externada. Aos colegas do “puxadinho” Well boy (Wellisson),

Alan, Tamires e Gabi (de quem sinto muita falta) que sempre aguentaram minhas reclamações.

- ❖ Aos demais amigos da UFPB, que sempre me apoiaram, a minha comadre louca Juliana Kelly e Danilo, aos meus pupilos Matheus (Xuxu) e Dani, o abraço forte de Willy, a atenção de Alex, Ana Rita, Laís, Arnalia, Anderson, Denise.
- ❖ Agradeço também aos que não estão mais na UFPB, mas compartilharam do início de minha jornada neste doutorado, Sandro, Severino e Leo.
- ❖ Ao amigo Vicente, do NUCAL, que sempre deu um jeitinho para realizar as análises.
- ❖ Ao amigo Marcos Pequeno, Secretário do PPGQ.
- ❖ A todos que, direta ou indiretamente, me auxiliaram nesta caminhada.

RESUMO

Título: Novos nitratos orgânicos derivados de biomassas como potenciais fármacos cardiovasculares

Autora: Maria Cláudia Rodrigues Brandão

Orientador: Prof. Dr. Petrônio Filgueiras de Athayde Filho

As doenças cardiovasculares são a principal causa de mortes no mundo, matando cerca de 17 milhões de pessoas por ano, segundo a Organização Mundial de Saúde. Um dos principais meios de tratamento destas doenças dá-se por controle dos níveis de óxido nítrico endógeno, cuja regulação depende da administração de espécies químicas doadoras deste óxido. O propósito deste estudo foi desenvolver novas formulações de nitratos orgânicos com potencialidades para atuar como pró-fármaco, partindo de matéria-prima de baixo custo, principalmente de coprodutos da indústria de biocombustíveis e reaproveitamento de biomassa. Foram sintetizados dezessete nitratos orgânicos, sendo treze deles moléculas inéditas, todos obtidos com excelentes rendimentos e caracterizados satisfatoriamente por espectroscopia de RMN ^1H , RMN ^{13}C e IV. Para tal, além de reagentes comercialmente adquiridos, utilizou-se glicerina bruta obtida da produção de biodiesel, previamente tratada e purificada, álcoois superiores destilados do óleo fúsel, que é um sub-produto da produção de etanol, e furfural que é um derivado da lignocelulose. Estes compostos foram sintetizados a partir da nitração de intermediários tipo álcoois e alcóxi-éteres por reação com ácido nítrico, e cloro-ésteres por reação com nitrato de prata. Os estudos *in silico* realizados apontam que estas moléculas apresentam excelente potencial para fármacos, apresentando baixa toxicidade, e atendendo aos parâmetros físico-químicos que são determinantes na absorção, distribuição, metabolismo e excreção de um fármaco. Todos os testes de atividade cardiovascular realizados foram satisfatórios, demonstrando que os nitratos sintetizados possuem potencial vasorrelaxante igual ou superior aos compostos de referência, com a vantagem de não provocarem estresse oxidativo e a consequente tolerância ao fármaco. De modo geral, verificou-se que as mudanças propostas no esqueleto carbônico dos novos nitratos desenvolvidos trouxeram vantagens de aplicação aos compostos, com aumento de seus efeitos benéficos atribuído também ao aumento da cadeia carbônica.

Palavras-chave: Nitratos orgânicos, doadores de óxido nítrico, vasodilatadores

ABSTRACT

Title: New organic nitrates from biomass with potentials cardiovascular drugs

Author: Maria Cláudia Rodrigues Brandão

Mastermind: Prof. Dr. Petronio Filgueiras de Athayde Filho

Cardiovascular diseases are the leading cause of death in the world, killing about 17 million people a year, according to the World Health Organization. The main means of treating these diseases is by controlling the levels of endogenous nitric oxide, whose regulation Depends on the administration of chemical species donor of this oxide. The purpose of this study was to develop new formulations of organic nitrates with potential to act as a pro-drug, starting from low-cost raw material, mainly biofuels co-products and biomass reuse. Seventeen organic nitrates were synthesized, thirteen of them being unpublished molecules, all obtained in excellent yields and satisfactorily characterized by ^1H NMR, ^{13}C NMR and IV spectroscopy. To this end, in addition to commercially available reagents, was used crude glycerine obtained from the production of biodiesel, previously treated and purified, higher alcohols distillate of the fusel oil, which is a by-product of ethanol production, and furfural which is a derivative of lignocellulose. These compounds were synthesized from the nitration of alcohols and alkoxy ethers by reaction with nitric acid, and chloro esters by reaction with silver nitrate. The *in silico* studies indicate that these molecules present excellent potential for drugs, presenting low toxicity, and taking into account the physicochemical parameters that are determinant in the absorption, distribution, metabolism and excretion of a drug. All tests of cardiovascular activity performed were satisfactory, demonstrating that the synthesized nitrates have a vasorelaxant potential equal to or greater than the reference compounds, with the advantage of not provoking oxidative stress and consequent tolerance to the drug. In general, it was verified that the proposed changes in the carbon skeleton of the new nitrates developed brought advantages of application to the compounds, with an increase in their beneficial effects attributed also to the increase of the carbon chain.

Key words: Organic Nitrates, Oxide Nitric Donors, vasodilator.

LISTA DE ESPECTROS

ESPECTRO 1- ESPECTRO DE IV (ATR) DO 1,3-DIHEXÓXIPROPAN-2-OL (DHP) (5D)	69
ESPECTRO 2- ESPECTRO DE RMN ¹ H (200 MHZ, CDCL ₃) DO 1,3-DIHEXÓXIPROPAN-2-OL (DHP) (5D)	70
ESPECTRO 3- ESPECTRO DE RMN ¹³ C (50 MHZ, CDCL ₃) DO 1,3-DIHEXÓXIPROPAN-2-OL (DHP) (5D)	71
ESPECTRO 4 - ESPECTRO DE RMN ¹ H (200 MHZ, CDCL ₃) DO NITRATO DE 1,3-BIS(HEXILOXI)PROPAN-2-ILA (NDHP) (6D)	74
ESPECTRO 5 - ESPECTRO DE RMN ¹³ C (50 MHZ, CDCL ₃) DO NITRATO DE 1,3-BIS(HEXILOXI)PROPAN-2-ILA (NDHP) (6D)	75
ESPECTRO 6 - ESPECTRO DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO (ATR/FTIR) DO NITRATO DE 1,3-BIS(HEXILOXI)PROPAN-2-ILA (NDHP) (6D)	76
ESPECTRO 7 - ESPECTRO DE IV (ATR) DO TNDEG.	78
ESPECTRO 8 - ESPECTRO DE RMN ¹³ C (50 MHZ, CDCL ₃) DO FCHD (18).....	83
ESPECTRO 9 - ESPECTRO IV (ATR) DO NE1 (28A)	87
ESPECTRO 10 - ESPECTRO IV (ATR) DO NE2 (28B)	87
ESPECTRO 11- ESPECTRO RMN ¹ H (CDCL ₃ , 200 MHZ) DO NE2 (28B).....	88
ESPECTRO 12- ESPECTRO RMN ¹³ C (CDCL ₃ , 50 MHZ) DO NE2 (28B).....	89
ESPECTRO 13 - ESPECTRO DE RMN ¹ H (CDCL ₃ , 200 MHZ) DO NDIBP (6A).....	159
ESPECTRO 14 - ESPECTRO DE RMN ¹³ C (CDCL ₃ , 50 MHZ) DO NDIBP (6A)	160
ESPECTRO 15 - ESPECTRO DE IV (ATR) DO NDIBP (6A)	161
ESPECTRO 16 - ESPECTRO DE RMN ¹ H (CDCL ₃ , 200 MHZ) DO NDPP (6B).....	162
ESPECTRO 17 - ESPECTRO DE RMN ¹³ C (CDCL ₃ , 50 MHZ) DO NDPP (6B)	163
ESPECTRO 18 - ESPECTRO DE IV (ATR) DO NDPP (6B)	164
ESPECTRO 19 - ESPECTRO DE RMN ¹ H (CDCL ₃ , 200 MHZ) DO NDIPP (6C)	166
ESPECTRO 20 - ESPECTRO DE RMN ¹³ C (CDCL ₃ , 50 MHZ) DO NDIPP (6B)	165
ESPECTRO 21 - ESPECTRO DE IV (ATR) DO NDIPP (6C)	167
ESPECTRO 22 - ESPECTRO DE RMN ¹ H (CDCL ₃ , 200 MHZ) DO NDHP (6D)	168
ESPECTRO 23 - ESPECTRO RMN ¹³ C (APT, CDCL ₃ , 50 MHZ) DO NDHP (6E)	170
ESPECTRO 24 - ESPECTRO DE IV (ATR) DO NDHP (6D).....	169
ESPECTRO 25 - ESPECTRO DE RMN ¹ H (CDCL ₃ , 200 MHZ) DO NDOP (6E).....	171
ESPECTRO 26 - ESPECTRO RMN ¹³ C (CDCL ₃ , 50 MHZ) DO NDOP (6E)	172
ESPECTRO 27 - ESPECTRO DE IV (ATR) DO NDOP (6E).....	173
ESPECTRO 28 - ESPECTRO DE RMN ¹ H (CDCL ₃ , 200 MHZ) DO NDDP (6F).....	174
ESPECTRO 29 - ESPECTRO DE IV (ATR) DO NDDP (6F)	175
ESPECTRO 30 - ESPECTRO DE RMN ¹ H (CDCL ₃ , 200 MHZ) DO NDDDP (6G)	176
ESPECTRO 31 - ESPECTRO DE IV (ATR) DO NDDDP (6G)	177
ESPECTRO 32 - ESPECTRO DE IV (ATR) DO NCH (22).....	178
ESPECTRO 33 - ESPECTRO DE RMN ¹ H (CDCL ₃ , 200 MHZ) DO NCH (22)	179

ESPECTRO 34 - ESPECTRO RMN ^{13}C (CDCl_3 50 MHZ) DO NCH (22).....	180
ESPECTRO 35 - ESPECTRO DE IV (KBR) DO FCHD (18).....	181
ESPECTRO 36 - ESPECTRO DE RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHZ) DO FCHD (18).	182
ESPECTRO 37 - ESPECTRO DE RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHZ) DO FCHD (18).	183
ESPECTRO 38 - ESPECTRO DE IV (ATR) DO RFCHD (19).	184
ESPECTRO 39 - ESPECTRO DE IV (ATR) DO NFCHD (20).	185
ESPECTRO 40 - ESPECTRO DE RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHZ) DO NFCHD (20).	186
ESPECTRO 41 - ESPECTRO DE RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHZ) DO NFCHD (20).	187
ESPECTRO 42 - ESPECTRO DE IV (ATR) DO BIS-NTHF (16).	188
ESPECTRO 43 - ESPECTRO DE RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHZ) DO BIS-NTHF (16).	189
ESPECTRO 44 - ESPECTRO DE RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHZ) DO BIS-NTHF (16).	190
ESPECTRO 45 - ESPECTRO DE RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHZ) DO NDEG (12).....	191
ESPECTRO 46 - ESPECTRO DE RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHZ) DO NDEG (12)	192
ESPECTRO 47 - ESPECTRO DE RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHZ) DO TNDEG (11)	193
ESPECTRO 48 - ESPECTRO DE RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHZ) DO TNDEG (11).....	194
ESPECTRO 49 - ESPECTRO DE IV (ATR) DO NBD (24).	195
ESPECTRO 50 - ESPECTRO DE RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHZ) DO NBD (24)	196
ESPECTRO 51 - ESPECTRO DE RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHZ) DO NBD (24)	197
ESPECTRO 52 - ESPECTRO DE RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHZ) DO E1 (27A)	198
ESPECTRO 53 - ESPECTRO DE RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHZ) DO NE1 (28A).....	199
ESPECTRO 54 - ESPECTRO DE RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHZ) DO NE1 (28A)	200
ESPECTRO 55 - ESPECTRO DE RMN ^1H X RMN ^1H (COSY, CDCl_3 , 400 MHZ) DO NE1 (28A).....	201
ESPECTRO 56 - ESPECTRO DE RMN ^{13}C X RMN ^1H (HMQC, CDCl_3 , 400 MHZ) DO NE1 (28A)....	202
ESPECTRO 57 - ESPECTRO DE RMN ^{13}C X RMN ^1H (HSQC, CDCl_3 , 400 MHZ) DO NE1 (28A)	203
ESPECTRO 58 - ESPECTRO DE IV (ATR) DO NE1 (28A)	204
ESPECTRO 59 - ESPECTRO DE IV (ATR) DO NE2 (28B)	205
ESPECTRO 60 - ESPECTRO DE RMN DE ^1H (CDCl_3 , 200MHZ) DO NE2 (28B)	206
ESPECTRO 61 - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C (CDCl_3 , 50MHZ) DO NE2 (28B)	207

LISTA DE ESQUEMAS

ESQUEMA 1- ESTRUTURA DO GRUPO FUNCIONAL DOS NITRATOS, NITRITOS E NITROCOMPOSTOS.	30
ESQUEMA 2 - REAÇÕES DOS NITRATOS ORGÂNICOS EM MEIO BÁSICO.	30
ESQUEMA 3- CISÃO HOMOLÍTICA DA LIGAÇÃO O – O NO HIDROPERÓXIETANO E DA LIGAÇÃO O – N NO NITRATO DE ETILA.	31
ESQUEMA 4- VIAS MECANÍSTICAS DA DECOMPOSIÇÃO TÉRMICA DOS NITRATOS ORGÂNICOS	32
ESQUEMA 5 – REAÇÕES QUÍMICAS DE NITRATOS COM SIGNIFICATIVO POTENCIAL BIOLÓGICO.....	33
ESQUEMA 6 – SÍNTESE ENDÓGENA DE ÓXIDO NÍTRICO.....	40
ESQUEMA 7 – OXIDAÇÃO E REDUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DO NITROGÊNIO.	41
ESQUEMA 8 – MECANISMO SIMPLIFICADO DO EFEITO DE VASORRELAXAMENTO PROMOVIDO POR NITRATOS ORGÂNICOS.....	42
ESQUEMA 9 – PROPOSTA DE MECANISMO DE BIOATIVAÇÃO DOS NITRATOS ORGÂNICOS POR ALDH2.	43
ESQUEMA 10 – ROTA SINTÉTICA DE OBTENÇÃO DO NCOE.	48
ESQUEMA 11 – OBTENÇÃO DE GLICEROL COMO CO-PRODUTO DA TRANSESTERIFICAÇÃO METANÓLICA DE TRIACILGLICERÍDEO CATALISADA POR HIDRÓXIDO DE POTÁSSIO.	51
ESQUEMA 12– OBTENÇÃO DO FURFURAL A PARTIR DE XILANAS SEPARADAS DA HEMICELULOSE.....	53
ESQUEMA 13 - ANÁLISE RETROSSINTÉTICA DAS MOLÉCULAS-ALVO.	57
ESQUEMA 14 - NITRATOS DERIVADOS DO DIETILENOGLICOL.....	58
ESQUEMA 15 - METODOLOGIA DE OBTENÇÃO DO TETRANITRADO DE (OXIBIS-ETANO-1,2-DIILA)BIS(OXI)BIS-PROPANO-1,2,3-TRIILA (11).....	58
ESQUEMA 16 - NITRATOS DERIVADOS DO FURFURAL	59
ESQUEMA 17- ROTA SINTÉTICA PARA OBTENÇÃO DOS NITRATOS DERIVADOS DO FURFURAL. A) SÍNTESE DO DINITRATO DE 1,2- BIS(TETRAHIDROFURAN-2-IL)ETANO-1,2-DIILA (16), B) SÍNTESE DO NITRATO DE 2,6-BIS((TETRAHIDROFURAN-2- IL)METIL)CICLOHEXILA (20).....	59
ESQUEMA 18 - A) NITRATO DERIVADO DO CICLOHEXANOL (NCH). B) NITRATO DERIVADO DO BUTANODIOL (NBD).	60
ESQUEMA 19 - ROTA SINTÉTICA PARA OBTENÇÃO DOS NITRATOS-ÉSTERES NE1, NE2, NE3 E NE4 (28 A-D)	60
ESQUEMA 20 - ETAPAS DE PURIFICAÇÃO DA GLICERINA.....	63
ESQUEMA 21- MECANISMO PROPOSTO PARA A SÍNTESE DO 1,3-DICLORO-PROPAN-2-OL (2).....	65
ESQUEMA 22 - REAÇÃO PARA OBTENÇÃO DOS 1,3-DIÉTERES-PROPAN-2-OL	67
ESQUEMA 23- MECANISMO PROPOSTO PARA A SÍNTESE DOS 1,3-DIÉTERES-PROPAN-2-OL (5A-G).	68
ESQUEMA 24- REAÇÕES ENVOLVIDAS NA NITRAÇÃO DOS DIÉTERES E DOS ÁLCOOIS	72
ESQUEMA 25 – MECANISMO DE REAÇÃO DE NITRAÇÃO.	72
ESQUEMA 26 - NITRATOS DERIVADOS DO DIETILENOGLICOL (11 E 12).....	78
ESQUEMA 27 - MECANISMO PROPOSTO PARA A SÍNTESE DE CHALCONAS	80
ESQUEMA 28 - SÍNTESE DO NITRATO NFCHD (20) DERIVADO DO FURFURAL	81
ESQUEMA 29 - SÍNTESE DO BIS-NTHF (16)	81
ESQUEMA 30 - PROPOSTA DE MECANISMO PARA A REAÇÃO DE OBTENÇÃO DOS NITRATO-ÉSTERES (28A-D).	86
ESQUEMA 31 - REAÇÃO DE OBTENÇÃO DA DCP.	117
ESQUEMA 32 - REAÇÃO DE PREPARAÇÃO DO ÁLCÓXIDO.	118

ESQUEMA 33 - ESQUEMA GERAL DE OBTENÇÃO DOS ALCÓXI-ÉTERES.	119
ESQUEMA 34 - ESQUEMA GERAL DE OBTENÇÃO DOS NITRATOS DERIVADOS DA GLICERINA.	123
ESQUEMA 35 - METODOLOGIA DE OBTENÇÃO DO DINTRATO DE OXIBIS-ETANO-1,2-DIILA (12).	128
ESQUEMA 36 - METODOLOGIA DE OBTENÇÃO DO INTERMEDIÁRIO EPÓXIDO (9)	129
ESQUEMA 37 - METODOLOGIA DE OBTENÇÃO DO INTERMEDIÁRIO TETRA-ÁLCOOL (10)	129
ESQUEMA 38 - METODOLOGIA DE OBTENÇÃO DO NITRATO TNDEG (11)	130
ESQUEMA 39 - METODOLOGIA GERAL PARA OBTENÇÃO DE CHALCONAS DERIVADAS DO FURFURAL.	131
ESQUEMA 40 - METODOLOGIA PARA OBTENÇÃO DE CHALCONAS DICONDENSADA DERIVADA DO FURFURAL-CICLOEXANONA.	131
ESQUEMA 41 - METODOLOGIA PARA OBTENÇÃO DA FUROÍNA (14).	132
ESQUEMA 42 - METODOLOGIA PARA OBTENÇÃO DO BIS-THF (15).....	134
ESQUEMA 43 - METODOLOGIA PARA OBTENÇÃO DO RFCHD (19).	135
ESQUEMA 44 - METODOLOGIA PARA OBTENÇÃO DO BIS-NTHF (16).	135
ESQUEMA 45 - METODOLOGIA PARA OBTENÇÃO DO NFCHD (20).....	136
ESQUEMA 46 - PREPARAÇÃO DO NITRATO DO CICLOHEXANOL (22)	137
ESQUEMA 47 - PREPARAÇÃO DO NITRATO DO BUTANODIOL	138
ESQUEMA 48 - METODOLOGIA GERAL PARA PREPARAÇÃO DOS CLORETOS	139
ESQUEMA 49 - METODOLOGIA GERAL PARA A SÍNTESE DOS NITRATOS-ÉSTERES	141

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1– FÓRMULAS ESTRUTURAIS DE (A) NITRATOS CLÁSSICOS, (B) NITRATOS NEO-CLÁSSICOS, (C) NITRATOS HÍBRIDOS.....	37
FIGURA 2 – (A) DIASTEREISÔMEROS DO DINITRATO DE ISOSSORBIDA; (B) EXEMPLOS DAS POSIÇÕES ENDO E EXO DE DINITRATOS; (C) METABOLISMO DO ISDN COM FORMAÇÃO DAS ESPÉCIES METABÓLICA ATIVAS – 5-ISMN (ENDO), ADMINISTRADO TERAPEUTICAMENTE E O 2-ISMN	46
FIGURA 3 – FÓRMULA ESTRUTURAL DOS NOVOS NITRATOS ORGÂNICOS OBTIDOS A PARTIR DA GLICERINA.	49
FIGURA 4- FÓRMULA ESTRUTURAL DO NDBP (NITRATO 1,2-DIBUTÓXI-2-PROPILA).....	56
FIGURA 5 - NITRATOS DERIVADOS DA GLICERINA PROPOSTOS NESTE TRABALHO	56
FIGURA 6 - COMPARAÇÃO DOS ESPECTROS NA REGIÃO IV DA GLICERINA E DO 1,3 DICLOROPROPAN-2-OL....	66
FIGURA 7 - COMPARAÇÃO DOS ESPECTROS DA REGIÃO DO IV DA GLICERINA E DOS DERIVADOS DCP (2), DHP (5D) E NDHP (6D).	77
FIGURA 8 - COMPARAÇÃO DOS ESPECTROS DA REGIÃO DO IV DA CHALCONA FCHD (18) E DOS DERIVADOS RFCHD (19) E NFCHD (20).....	84
FIGURA 9 - COMPARAÇÃO DOS ESPECTROS DA REGIÃO DO IV DA FUROIÁNA (14), DA R-FUROIÁNA (15) E DO BIS-NTHF (16).	85
FIGURA 10 - GRÁFICOS DE DRUGLIKENESS MODEL SCORE (HTTP://WWW.MOLSOFT.COM) A) NDIBP = -1,18 B) NDIPP = -0,92	93
FIGURA 11 - GRÁFICO DE DRUGLIKENESS MODEL SCORE (HTTP://WWW.MOLSOFT.COM) (28d) NE4 = 0,22.	97
FIGURA 12 - A) IMAGEM REPRESENTATIVA DE FLUORESCÊNCIA DE ANÉIS DE ARTÉRIA MESENTÉRICA CRANIAL INCUBADA COM DAF-2DA (10 MMOL/L), EM CÉLULA DE FLUORESCÊNCIA PERMEÁVEL PARA NO. B) GRÁFICO BASE QUE MOSTRA A PRODUÇÃO DE NO APÓS INCUBAÇÃO APENAS COM DAF-2DA (10 MMOL/L)	107
FIGURA 13 - COMPARAÇÃO DA EFICÁCIA DO RELAXAMENTO DO TÔNUS BASAL DE HUV INDUZIDO PELOS NITRATOS.	108

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - RADAR DE BIODISPONIBILIDADE DO NDIBP (6A) – APRESENTA A CORRELAÇÃO ENTRE TAMANHO DA MOLÉCULA, FLEXIBILIDADE, SOLUBILIDADE, LIPOFILICIDADE, SATURAÇÃO E POLARIDADE.....	91
GRÁFICO 2 - RADAR DE BIODISPONIBILIDADE DO NE4 (28D) – APRESENTA A CORRELAÇÃO ENTRE TAMANHO DA MOLÉCULA, FLEXIBILIDADE, SOLUBILIDADE, LIPOFILICIDADE, SATURAÇÃO E POLARIDADE.	96
GRÁFICO 3 - CORRELAÇÃO ENTRE WLOGP E TPSA, NA FORMA DE BOILED-EGG, PARA OS NITRATOS DA SÉRIE DG (6A-G).	99
GRÁFICO 4 - CORRELAÇÃO ENTRE WLOGP E TPSA, NA FORMA DE BOILED-EGG, PARA OS NITRATOS NÃO-SERIADOS.	100
GRÁFICO 5 - EFEITO VASORRELAXANTE DO NDHP (6D) NA PRESENÇA E AUSÊNCIA DO ENDOTÉLIO FUNCIONAL (N = 6, N = 7). VALORES EXPRESSOS COMO MÉDIA ± E. P. M. P<0,05.....	104
GRÁFICO 6 - EFEITO VASORRELAXANTE DO NDIPP (6C) NA PRESENÇA E AUSÊNCIA DO ENDOTÉLIO FUNCIONAL (N = 6, N = 7). VALORES EXPRESSOS COMO MÉDIA ± E. P. M. P<0,05.....	104
GRÁFICO 7 - CURVA DE CONCENTRAÇÃO-RESPOSTA PARA O NDOP (10^{-8} – 10^{-3} M) EM ANÉIS DE AORTA TORÁCICA ISOLADA DE CAMUNDONGO PRÉ-CONTRAÍDAS NA AUSÊNCIA (N = 6) E PRESENÇA (N = 9) DO ENDOTÉLIO FUNCIONAL.	105
GRÁFICO 8 - CURVA DE CONCENTRAÇÃO-RESPOSTA PARA O NDHP (6D), NDB (24) E NDIPP (6C) (10^{-8} – 10^{-3} M) EM ANÉIS DE AORTA TORÁCICA ISOLADA DE CAMUNDONGO PRÉ-CONTRAÍDAS NA PRESENÇA DO ENDOTÉLIO FUNCIONAL.	106
GRÁFICO 9 - CURVA DE CONCENTRAÇÃO-RESPOSTA PARA O NDHP (6D), NDB (24) E NDIPP (6C) (10^{-8} – 10^{-3} M) EM ANÉIS DE AORTA TORÁCICA ISOLADA DE CAMUNDONGO PRÉ-CONTRAÍDAS NA AUSÊNCIA DO ENDOTÉLIO FUNCIONAL.	106

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - ALÍQUOTAS OBTIDAS DURANTE A DESTILAÇÃO FRACIONADA DO ÓLEO FÚSEL.	62
TABELA 2 – ESTRUTURAS E RENDIMENTOS DOS NITRATOS DERIVADOS DA GLICERINA (6A-G).	73
TABELA 3 - PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DA SÉRIE DG (6A-G).	92
TABELA 4 - PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DOS NITRATOS ALIFÁTICOS, NITRATOS CÍCLICOS E NITRATOS-ÉSTERES	95
TABELA 5 - COMPORTAMENTO FARMACOCINÉTICO DOS NITRATOS SINTETIZADOS MEDIANTE PADRÕES DE ABSORÇÃO, INTERAÇÃO COM P-GP E INIBIÇÃO DAS ISOFORMAS DA ENZIMA CITOCROMO P-450 OXIDASE.	98
TABELA 6 - ANÁLISE DE TOXICIDADE DOS NITRATOS SINTETIZADOS.	101
TABELA 7 - ANÁLISE DE ATIVIDADE BIOLÓGICA COMPARATIVA ÀS SEIS PRINCIPAIS CLASSES DE FÁRMACOS (MOLINSPIRATION BIOACTIVITY SCORE V2016.03)	102
TABELA 8 - CONDIÇÕES DE REAÇÃO PARA PREPARAÇÃO DOS ALCÓXIDOS (4A-G).	118

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

δ_{as}	Deformação Angular Assimétrica
δ_s	Deformação Angular Simétrica
ν_{as}	Deformação Axial Assimétrica
ν_s	Deformação Axial Simétrica
ABS	Porcentagem de Absorção
ADMET	Absorção, Distribuição, Metabolização, Excreção e Toxicidade
ALH	Aceptores de Ligação de Hidrogênio
Alif.	Alifático
APT	Attached Proton Test
Ar.	Aromático
ANP	Agencia Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
$CDCl_3$	Clorofórmio deuterado
CIM	Concentração Inibitória Mínima
cLogP	Parâmetro de Lipofilicidade
d	Dubleto
DBA	Dihidroxibenzaldeído
DLH	Doadores de Ligação de Hidrogênio
DCP	1,3-Dicloro-propan-2-ol
$E_{m\acute{a}x}$	Efeito máximo de vasorrelaxamento
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
IV	Espectroscopia na Região do Infravermelho
5-HT	5-hidroxitriptamina
J	Constante de acoplamento
LogS	Solubilidade
m	Multiplete
MHz	Mega Hertz
MM	Massa Molecular
NUCAL	Núcleo de caracterização e Análise da UFPB
p	Quinteto
pD2	Potência de vasorrelaxamento
ppm	Partes por milhão
PSA	Polar Superficial Area

q	Quarteto
RMN ¹H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN ¹³C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
s	Singleto
SN₂	Substituição nucleofílica bimolecular
t	triplete
XOR	Xantina oxiredutase (enzima)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	23
2. OBJETIVOS	26
2.1 OBJETIVO GERAL	26
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	28
3.1 HISTÓRICO DO DESENVOLVIMENTO E USO DE NITRATOS ORGÂNICOS	28
3.2 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DOS NITRATOS ORGÂNICOS	29
3.3 METODOLOGIAS DE SÍNTESE DOS NITRATOS ORGÂNICOS	34
3.4 POTENCIALIDADES FARMACOLÓGICAS	36
3.4.1 Óxido Nítrico (NO)	39
3.4.2 Mecanismo de Ação	41
3.4.3 Tolerância	43
3.4.4 Novos Nitratos com Potencial Farmacológico	45
3.5 MATÉRIA-PRIMA PARA A SÍNTESE DE NITRATOS	49
3.5.1 Glicerina	50
3.5.2 Óleo Fúsel	51
3.5.3 Furfural	52
4. ESTRATÉGIA SINTÉTICA	55
4.1 NITRATOS DERIVADOS DA GLICERINA	55
4.2 NITRATOS DERIVADOS DO DIETILENOGLICOL	57
4.3 NITRATOS DERIVADOS DO FURFURAL	59
4.5 NITRATOS ÉSTERES	60
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
5.1 SÍNTESE DOS COMPOSTOS DERIVADOS DA GLICERINA	62
5.1.1 Destilação do Óleo Fúsel para Obtenção de Álcoois Superiores	62
5.1.2 Purificação da Glicerina	63
5.1.3 Síntese do Intermediário 1,3-dicloro-propan-2-ol (DCP) (2)	64
5.1.4 Síntese dos Intermediários 1,3-diéter-propan-2-ol.	66
5.1.2.1 Caracterização Estrutural dos Intermediários 1,3-diéter-propan-2-ol	68
5.1.3 Síntese dos Nitratos Derivados do 1,3-diéter-propan-2-ol.	71
5.1.3.1 Caracterização dos Nitratos Derivados da Glicerina	74
5.2 SÍNTESE DOS NITRATOS DERIVADOS DO ETILENOGLICOL	77
5.3.1 Caracterização dos Compostos Derivados do Furfural	82
5.4 SÍNTESE DOS NITRATOS ÉSTERES	85
5.5 ESTUDOS BIOLÓGICOS	89
5.5.1 Estudos in silico	89
5.5.1.1 Estudos in silico de Propriedades Físico-Químicas	90
5.5.1.2 Estudo in silico das Interações dos Nitratos com Proteínas e Enzimas	97
5.5.1.3 Estudo in silico de Toxicidade dos Nitratos	101
5.5.4 Estudos de Atividade Cardiovascular	103
6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	111

6.1 CONCLUSÕES.....	111
6.2 PERSPECTIVA.....	112
7. METODOLOGIA	114
7.1 MATERIAIS E MÉTODOS	114
7.2.1 Destilação do Óleo Fúsel.....	115
7.2.2 Purificação da Glicerina Bruta	116
7.3 METODOLOGIAS DE SÍNTESE DOS COMPOSTOS INTERMEDIÁRIOS DERIVADOS DA GLICERINA	117
7.3.1 Obtenção da Halohidrina 1,3-dicloro-propan-2-ol (DCP) (2)	117
7.3.2 Metodologia Geral para Obtenção dos Alcóxidos (4a-g)	118
7.3.3 Metodologia Geral para Obtenção dos Alcóxi-éteres (5a-g)	119
7.3.4 Dados Espectroscópicos dos Intermediários Alcóxi-éteres (5a-g)	119
7.3.4.1 Alcóxi-éter DIBP (5a).....	119
7.3.4.2 Alcóxi-éter DPP (5b).....	120
7.3.4.3 Alcóxi-éter (DIPP) (5c).	120
7.3.4.4 Alcóxi-éter (DHP) (5d).....	121
7.3.4.5 Alcóxi-éter (DOP) (5e).....	121
7.3.4.6 Alcóxi-éter (DDP) (5f).....	122
7.3.4.7 Alcóxi-éter (DDDP) (5g).	122
7.4 METODOLOGIA GERAL PARA SÍNTESE DOS NITRATOS DERIVADOS DA GLICERINA	123
7.4.1 Nitrato NDIBP (6a)	124
7.4.2 Nitrato NDPP (6b)	124
7.4.3 Nitrato NDIPP (6c).....	125
7.4.4 Nitrato NDHP (6d)	125
7.4.5 Nitrato NDOP (6e).....	126
7.4.6 Nitrato NDDP (6f)	126
7.4.7 Nitrato NDDDP (6g).....	127
7.5 METODOLOGIAS DE SÍNTESE DOS COMPOSTOS DERIVADOS DO DIETILENOGLICOL	127
7.5.1 Nitrato NDEG (12)	128
7.5.2 Nitrato TNDEG (11).....	128
7.6 METODOLOGIAS DE SÍNTESE DOS COMPOSTOS DERIVADOS DO FURFURAL	131
7.6.1 Preparação da Chalcona	131
7.6.1.1 Chalcona (18).....	131
7.6.2 Preparação da Furoína (14)	132
7.6.3 Redução da Chalcona (18) e da Furoína (14).....	133
7.6.3.1 Preparação bis-THF (15).....	134
7.6.3.2 Preparação do RFCHD (19).....	135
7.6.4 Obtenção de Nitratos Derivados do Furfural.....	135
7.6.4.1 Preparação do bis-NTHF (16)	135
7.6.4.2 Preparação do nitrato NFCHD (20).....	136
7.7 SÍNTESE DOS COMPOSTOS DERIVADOS DO CICLOHEXANOL E BUTANO- 1,4-DIOL	137
7.7.1 Nitrato NCH (22).....	137
7.7.2 Nitrato NBD (24).....	138
7.8 SÍNTESE DOS NITRATOS-ÉSTERES.....	139
7.7.1 Síntese dos Cloretos Intermediários	139
7.7.1.1 Preparação do acetato de 4-clorobutila (27a)	139

7.7.1.2 Preparação do benzoato de 4-clorobutila (27b)	140
7.7.1.3 Preparação do 4-clorobenzoato de 4-clorobutila (27c)	140
7.7.1.4 Preparação do 4-metóbenzoato de 4-clorobutila (27d)	140
7.7.2 Síntese dos Nitratos-Ésteres	141
7.7.2.1 Síntese do Acetato de 4-nitrooxibutila (NE1) (28a)	141
7.7.2.2 Síntese do Acetato de 4-nitrooxibutila (NE2) (28b)	142
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	144
ANEXO 1: ESPECTROS DE IV, RMN ¹H E RMN ¹³C DOS NITRATOS SINTETIZADOS	159
ANEXO 2: PATENTES E PUBLICAÇÕES	208

Capítulo 1

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Os nitratos orgânicos são ésteres de ácido nítrico com cadeia carbônica derivada de mono ou poliálcoois que constituem moléculas de grande interesse para a Química Medicinal, indústria de combustíveis, tintas e vernizes, adubo sintético e explosivos (OMAR et al, 2012).

A capacidade de serem fontes de óxido nítrico exógeno, ou seja, doar óxido nítrico (NO) em sistemas biológicos é a propriedade mais relevante deste grupo de compostos, na qual se baseiam os estudos de potencialidades farmacológicas.

A liberação de óxido nítrico no organismo desempenha um conjunto de ações centrais e periféricas, que são determinantes na atividade cardiovascular (OGURTSOV et al, 2016) e a alteração nos níveis endógenos desta molécula podem levar a uma série de doenças cardiovasculares (DAIBER et al, 2012). Substâncias doadoras de NO estão sendo utilizadas clinicamente para regulação destas funções desde o final do século XIX (VOEGTLIN; MACHT, 1913 *apud* CARR, 1975), embora o seu mecanismo de ação só tenha começado a ser esclarecido na primeira década do século XXI (IGNARRO, 2002). Efeitos adversos e tolerância em uso crônico gerados pelas drogas convencionalmente utilizadas para este fim, tais como a nitroglicerina e o dinitrato de isossorbide (WANG et al, 2002), têm impulsionado a pesquisa por novas formulações de doadores de NO, que possam apresentar mecanismo de ação distinto e consequentemente maior eficácia (MUNZEL et al., 2011; OMAR et al., 2012; ZHUGE et al., 2017).

Os nitratos orgânicos representam a mais antiga classe de doadores de óxido nítrico com aplicação clínica (FRANÇA-SILVA et al., 2014), sendo capazes de liberar NO em condições *in vitro* e *in vivo*, “*mimetizando a resposta endógena do NO ou substituindo-o em situações nas quais há redução de sua biodisponibilidade*”, como enfatiza Paula (2016).

A principal aplicação terapêutica dos nitratos orgânicos é como vasodilatadores, atuando no tratamento de doenças cardiovasculares que, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2016), são a principal causa de mortes no

mundo, levando a óbito mais de 17 milhões de pessoas por ano, vítimas de doenças como isquemia, infarto do miocárdio, acidentes vasculares, etc.

O uso terapêutico dos nitratos orgânicos vai além do tratamento de doenças cardiovasculares, podendo atuar também no combate a osteoporose (HAMILTON et al, 2013), controle da glicemia (WANG et al, 2013), câncer de mama (LOIBL et al, 2002), do colo do útero (NAIDU et al, 2007), de pulmão (CHOULDARI et al, 2013), tumor cerebral (BROHOLM et al, 2003) e da orofaringe (D'SOUZA et al, 2007), entre outros.

O mecanismo de ação dos doadores de NO varia em cada situação, e, no caso dos nitratos orgânicos, depende diretamente da cadeia carbônica atrelada ao grupo funcional, interferindo na farmacocinética e farmacodinâmica do composto e por consequência, na sua forma de ação no organismo. O controle na forma e dosagem da liberação endógena de NO é requerido nos mais diversos tratamentos clínicos, para garantir a maior eficácia como vasodilatador (ou a melhor propriedade antiproliferativa – no caso de tratamento de câncer) e o mínimo de efeitos colaterais (CHOUDARI et al, 2013.; FRANÇA-SILVA et al, 2014), daí a relevância do desenvolvimento de novas formulações de doadores de NO.

Neste trabalho apresentamos a síntese e avaliação de nitratos orgânicos, com variações na cadeia carbônica que levem a potencialização de seus efeitos benéficos, desenvolvidos a partir do reaproveitamento da biomassa.

Capítulo 2

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Os estudos realizados neste trabalho tiveram como finalidade a obtenção de novos nitratos orgânicos com potencialidades de aplicação como fármacos para tratamento de doenças cardiovasculares.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Agregar valor a glicerina bruta oriunda da produção de biodiesel como material de partida na síntese de novos nitratos orgânicos.
- Utilizar álcoois superiores derivados do óleo fúsel aplicáveis à síntese dos nitratos.
- Obter e caracterizar intermediários com estrutura molecular e grupos funcionais que potencializem a ação dos nitratos.
- Sintetizar e caracterizar novos nitratos orgânicos.
- Realizar estudos *in silico* das moléculas planejadas.
- Avaliar os nitratos obtidos quanto a sua atividade biológica, relativo à ação cardiovascular.

Capítulo 3

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 HISTÓRICO DO DESENVOLVIMENTO E USO DE NITRATOS ORGÂNICOS

O primeiro composto nitrogenado de interesse comercial sintetizado foi o nitrito de amila, obtido a partir da reação entre o álcool amílico e o óxido nitroso, por A. J. Balard em 1844 (KRANTZ Jr., 1975; HARRISON, 2005; OMAR; ARTIME; WEBB, 2012). Observou-se na época que a sua manipulação causava rubores na face, aceleração do ritmo cardíaco e pulsação, de modo que a sua inalação passou a ser recomendada a pessoas vítimas de desmaio, afogamento ou sufocamento.

O primeiro nitrato orgânico de grande relevância foi o trinitrato de glicerina (TNG), desenvolvido pelo químico italiano Ascanio Sobrero em 1846 (KRANTZ Jr., 1975, FRANÇA-SILVA *et al.*, 2014), tornando-se uma substância popularmente conhecida após desenvolvimento do controle de sua detonação, com a formulação da dinamite, por Alfred Nobel em 1863 (WANG *et al.*, 2002), passando a chamar-se usualmente nitroglicerina (lembrando que trata-se de um nitrato orgânico e não um nitrocomposto) (OMAR; ARTIME; WEBB. 2012). Seu uso clínico foi introduzido por Willian Murrell em 1876, para o tratamento de angina (OMAR; ARTIME; WEBB. 2012).

Krantz Jr. (1975) cita vários estudos decorridos no século XIX sobre as propriedades e potencialidades dos nitratos orgânicos naturais e sintéticos. Estes estudos consideravam sempre duas vertentes (uma ou outra): atividade cardiovascular e potencial explosivo.

Segundo Suppes e colaboradores (1997), a aplicação dos nitratos orgânicos como aditivos para combustível só é relatada a partir da segunda metade do século XX, em função do aumento da demanda por combustíveis fósseis e disponibilização comercial de óleo diesel de menor qualidade.

Os primeiros relatos de introdução clínica dos nitratos orgânicos datam do final do século XIX, com a indicação terapêutica de nitratos da glicerina, da isossorbida e o tetranitrato de pentaeritritil. Omar et al. (2012) afirma que os nitratos orgânicos são as drogas sintéticas de uso medicinal mais antigas e seu uso passou a ser preterido em relação aos nitritos orgânicos devido a longa duração de seus efeitos hemodinâmicos.

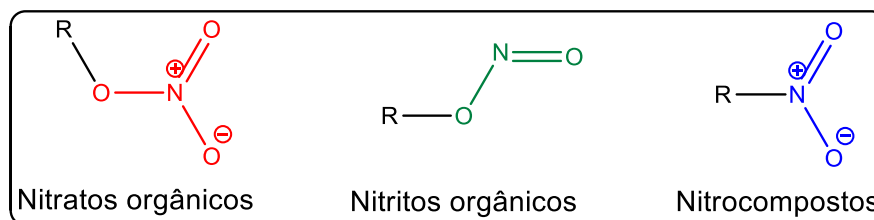
Münzel *et al.* (2011) comenta que tão logo foi iniciado o uso terapêutico de tais nitratos, foi relatado também a diminuição de seus efeitos hemodinâmicos e clínicos em uso contínuo, fazendo-se os primeiros registros de tolerância aos nitratos orgânicos. Estes nitratos ainda despontam entre os mais utilizados para o tratamento de diversos problemas cardiovasculares, principalmente a angina.

Os estudos registrados ao longo do século XX detiveram-se na compreensão do mecanismo de ação dos nitratos nos organismos vivos e no desenvolvimento de novas formulações menos suscetíveis a tolerância terapêutica. Em 1977, Arnold e colaboradores (*apud* FRANÇA-SILVA *et al.*, 2014) apresentaram estudo sobre a relação entre os efeitos fisiológicos do uso de nitratos orgânicos com a liberação de óxido nítrico (NO) no organismo. O entendimento do mecanismo de ação permitiu a avaliação de novas aplicações farmacológicas, tais como o tratamento de complicações apresentadas por portadores de *Diabetes Melitus* - final do século XX (OLZE *et al.*, 2010), no tratamento da osteoporose (HAMILTON; REID; JAMAL, 2013) e doenças neurológicas, a exemplo do Mal de Alzheimer - século XXI (THATCHER *et al.*, 2007).

3.2 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DOS NITRATOS ORGÂNICOS

Os nitratos orgânicos são ésteres do ácido nítrico com mono e poliálcoois (WANG *et al.*, 2002) e apresentam em sua estrutura o grupo nitróxi, que o distingue dos nitritos (que são ésteres do ácido nitroso) e dos nitrocompostos (que apresentam o átomo de nitrogênio diretamente ligado ao carbono), como mostra o Esquema 1.

Esquema 1- Estrutura do Grupo Funcional dos Nitratos, Nitritos e Nitrocompostos.

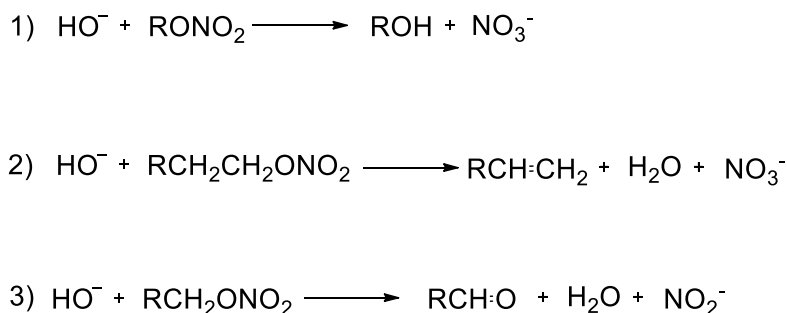


Fonte: Clayden et al. (2012)

Os nitratos orgânicos são líquidos viscosos, quando preparados a partir de álcoois de baixo peso molecular, a exemplo do dinitrato de etilenoglicol e trinitrato de glicerina, e sólidos cristalinos, quando obtidos a partir de cadeias maiores, tais como os nitratos de isossorbide. São pouco solúveis em água e apresentam ponto de ebulição superior ao álcool correspondente (JOHNSON Jr., 1975).

Os nitratos orgânicos são estáveis quimicamente apenas em meio neutro, e em meio ácido ou básico bastante diluídos, mas, assim como qualquer éster, sofrem hidrólise, sobretudo em meio fortemente alcalino, com reconstituição do álcool de origem e formação do ânion nitrato (NO_3^-), como representado no Esquema 2 (1), podendo haver também reação de eliminação do H- β , com formação de alqueno e do ânion nitrato (2) ou com a remoção do H- α , obtendo-se aldeído e o ânion nitrito (NO_2^-) (3) (THATCHER; WELDON, 1998; WANG *et al.*, 2002, THATCHER, 2007). Estas reações, apresentadas no Esquema 2, ocorrem normalmente via cisão da ligação C – O, exceto quando estão na presença de alguns nucleófilos tipo hidrazina, hidroxilamina e derivados (THATCHER, 2007). Nucleófilos sulfurados também reagem com os nitratos via cisão da ligação C – O ou da ligação N – O gerando os ânions nitrato e nitrito, respectivamente.

Esquema 2 - Reações dos Nitratos Orgânicos em Meio Básico.

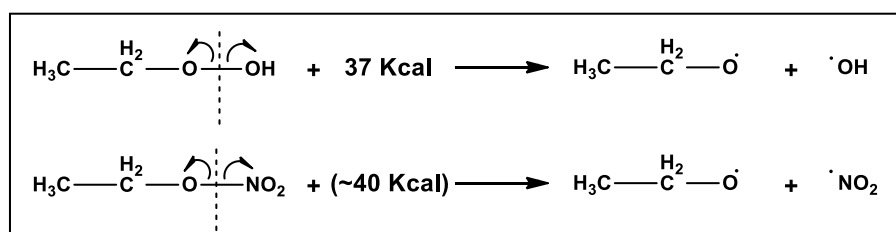


Fonte: Thatcher; Weldon (1998)

Em meio fortemente ácido ocorrerá preferencialmente à decomposição do nitrato por ruptura homolítica da ligação O – NO₂ (WANG *et al.*, 2013), que pode ser extremamente perigosa e energética quando em ambiente fechado. Todos os nitratos orgânicos são explosivos em potencial, cuja detonação pode ocorrer por perturbações no sistema, tipo aquecimento, choque mecânico ou explosão de outra molécula associada (JOHNSON Jr., 1975). Os nitratos orgânicos são muito mais explosivos que os nitrocompostos, até mesmo os de uso clínico. Para a sua preparação em larga escala é necessário o uso de adsorventes orgânicos apropriados em grande quantidade, podendo associar também materiais abrasivos para minimizar o risco do meio tornar-se ácido e promover a decomposição. Os nitratos orgânicos são armazenados revestidos em materiais inertes, que absorvam impacto e evitem a presença de umidade.

Francisco e Krylowski (2005) afirmam que as diversas propriedades dos nitratos orgânicos podem ser atribuídas a baixa energia da ligação RO – NO₂. Eles sugerem também que os nitratos orgânicos são similares aos peróxidos orgânicos, pois a cisão homolítica da ligação O – O nestes envolve quantidade equivalente de energia, como apresentado no Esquema 3.

Esquema 3- Cisão Homolítica da Ligação O – O no Hidroperóxido de Etila e da Ligação O – N no Nitrato de Etila.

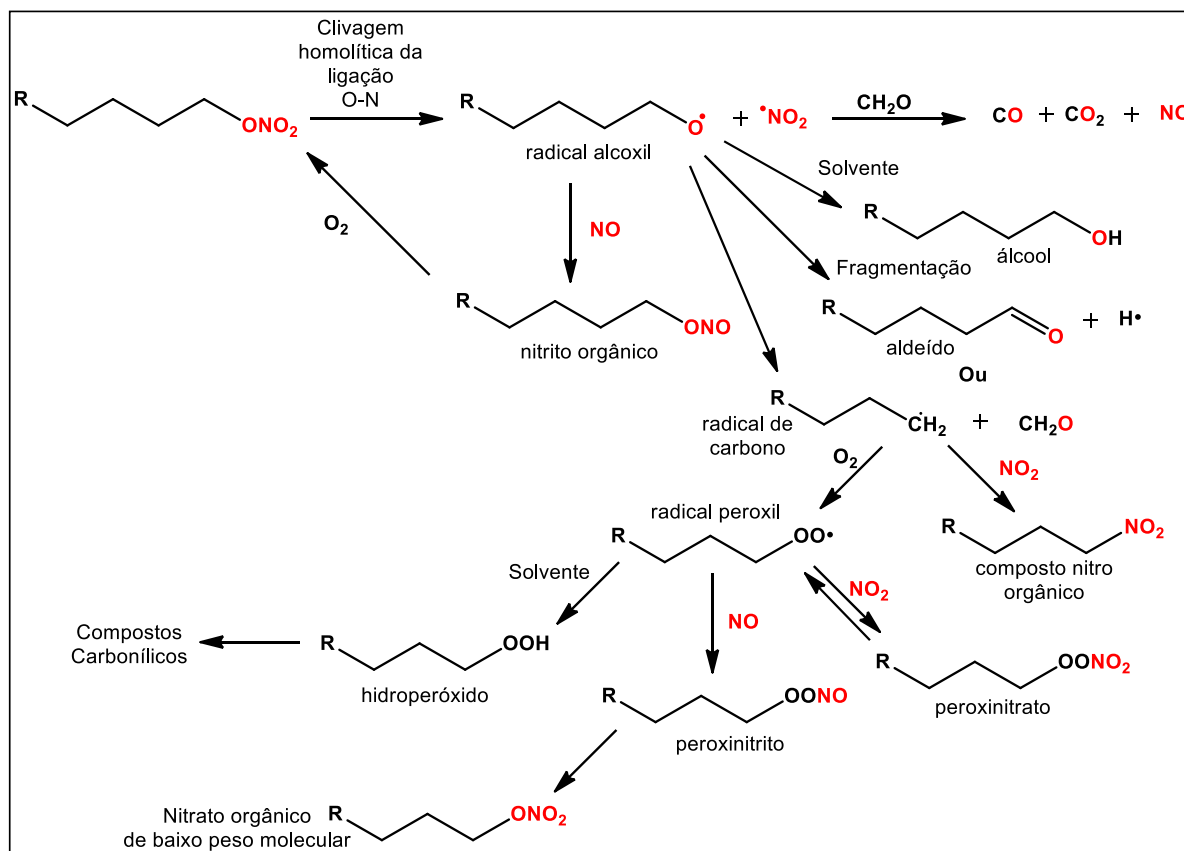


Fonte: Francisco; Krylowski (2005).

Estudos realizados na década de 50 (LEVY, 1954a; LEVY, 1954b; BOSCHAN; MERROW; VAN DOLAH, 1955) sobre a reação de decomposição térmica dos nitratos orgânicos, já mostravam que a etapa determinante da reação é a clivagem da ligação O – N para formação do radical alcóxi e NO₂. Francisco e Krylowski (2005) propõem que a etapa inicial é uma simples reação unimolecular, mas os mecanismos defendidos apresentam uma complicada série de reações subsequentes e/ou secundárias (Esquema 4), com a possibilidade de interação dos

radicais formados entre si e com outras moléculas presentes no meio reacional, tais como solvente, gás oxigênio, etc.

Esquema 4- Vias mecanísticas da decomposição térmica dos nitratos orgânicos



Fonte: Francisco; Krylowski (2005).

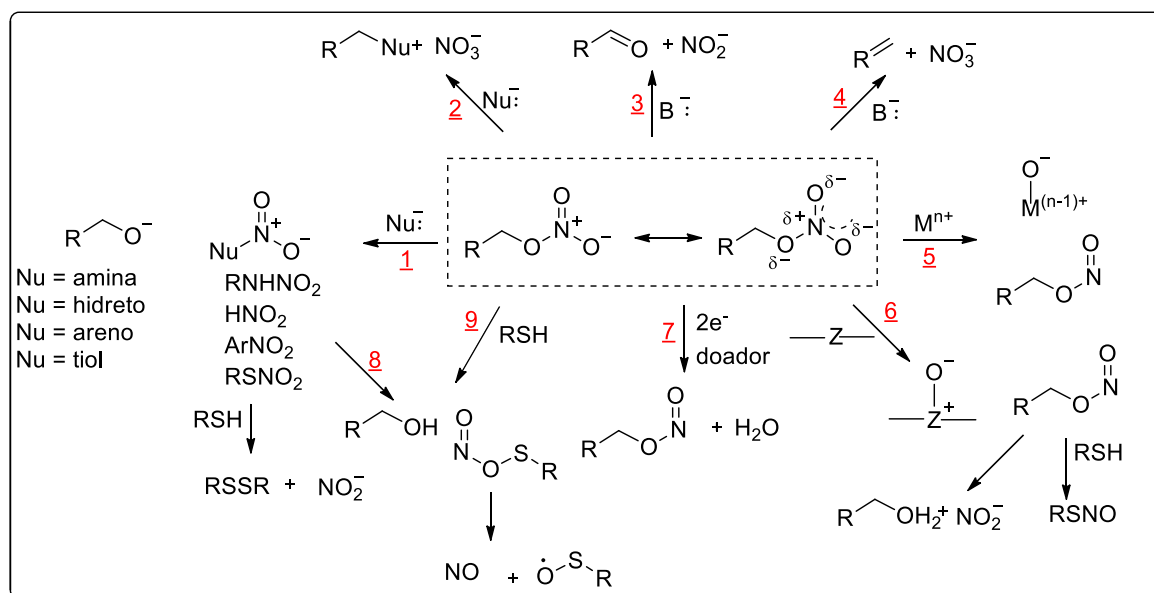
Francisco e Krylowski (2010) reiteram as informações apresentadas nestes estudos e utilizaram as técnicas como espectroscopia na Região do Infravermelho e Cromatografia Gasosa com Espectroscopia de Massa para comprovar a ocorrência da cisão homolítica da ligação O – N como etapa inicial, de primeira ordem, determinante da cinética da reação, quando ocorre decomposição térmica envolvendo os nitratos orgânicos. A metodologia aplicada para detecção dos diversos compostos e radicais possivelmente gerados na decomposição dos nitratos foi apresentada também por Bruns *et al.* (2010), que utiliza as técnicas IV e Espectrometria de Massa.

Em sistemas biológicos a decomposição térmica de nitratos por homólise, originando NO₂ é improvável e irrelevante, porém, segundo Clarke *et al.* (2006)

existem evidências da formação de NO_2 por processos do tipo fotólise, mas o mesmo não ocorre para formação direta de NO . Thatcher (2007) afirma que os nitratos são fotolábeis, mas sua reatividade depende da cadeia carbônica presente, a exemplo das cadeias alifáticas não-ramificadas que requerem tempos de reação prolongados.

Thatcher (2007) cita que a reação orgânica em meio biológico dominante para os nitratos é a oxidação. A nitração de nucleófilos e arenos pode ser realizada por nitratos, catalisada por ácidos de Lewis e ácidos de Bronsted. Os nitratos estão sujeitos também à ionização, com formação do íon nitrônio (NO_2^+), quando em concentrações elevadas de ácido sulfúrico. O Esquema 5 apresenta as nove principais reações químicas envolvendo os nitratos orgânicos com potencial biológico significativo.

Esquema 5 – Reações químicas de nitratos com significativo potencial biológico



Fonte: Thatcher (2007).

Legenda: [1] e [2] representam reações de ataque nucleofílico ao carbono do grupo nitro, formando NO_3^- ou NO_2^- ; [3] e [4] reações de eliminação com bases fortes; [5] e [6] transferência do átomo de oxigênio para metais de transição ou agentes redutores com S, P ou N no centro da molécula; [7] reação com transferência de $2e^-$; [8] rearranjo unimolecular do tionitrato para sulfenil nitrito; [9] Reação de tiol com grupo nitro gerando sulfenil nitrito.

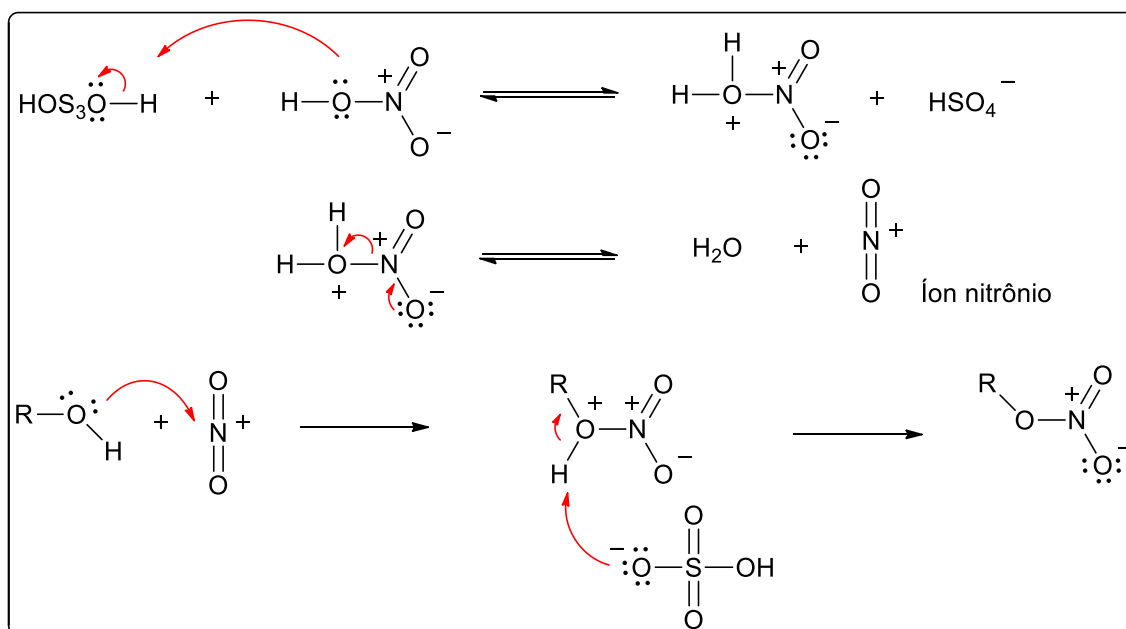
Thatcher (2007) afirma que as nove rotas de reação apresentadas no Esquema 5 são potencialmente viáveis em condições fisiológicas devido ao aparato catalítico oferecido pelo nosso sistema enzimático, que incluem ácidos e bases de

Bronsted, ácidos de Lewis, além dos centros metálicos e cofatores para reações de oxirredução.

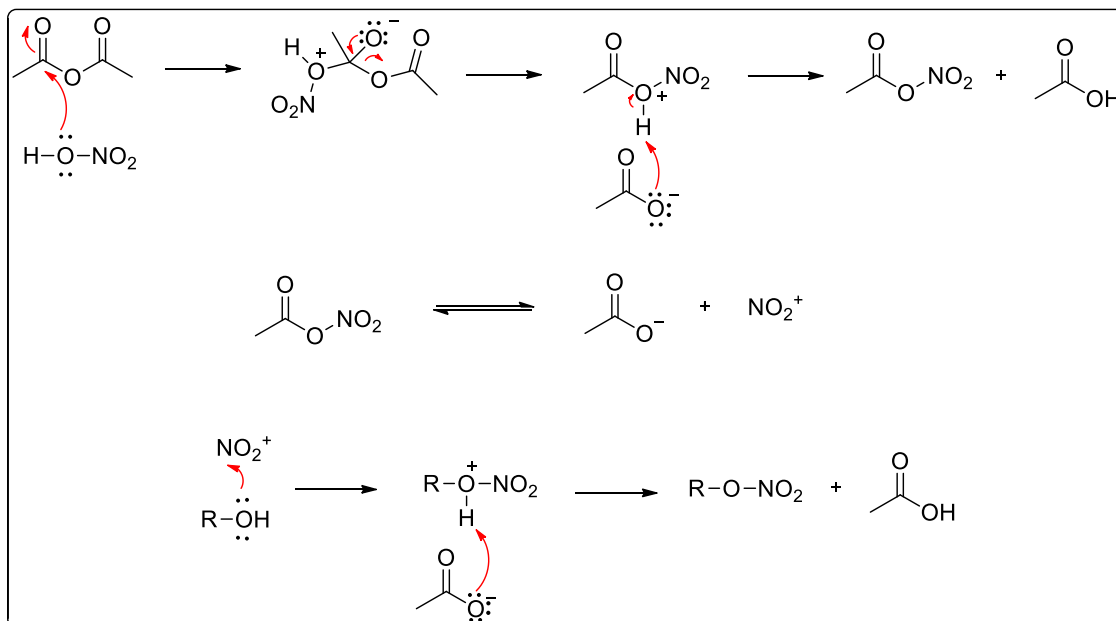
3.3 METODOLOGIAS DE SÍNTESE DOS NITRATOS ORGÂNICOS

As rotas sintéticas para obtenção dos nitratos orgânicos não sofreram variações consideráveis desde meados do século XX, pois apresentam excelentes taxas de conversão e rendimento, utilizando reagentes de fácil acesso e baixo custo. Convencionalmente são utilizadas três rotas (JOHNSON Jr, 1975):

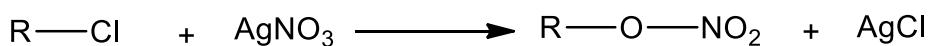
- Via esterificação de álcoois utilizando uma combinação equimolar de ácido nítrico com ácido sulfúrico.



- b. Esterificação de álcoois utilizando ácido nítrico concentrado em presença de anidrido acético.



- c. Substituição em haletos orgânicos utilizando nitrato de prata.



A rota (c) é particularmente utilizada quando há interesse em nitração parcial ou total de poliálcoois.

Para todas as rotas sintéticas utilizadas deve-se levar em consideração o seu risco em potencial, pois variações bruscas de temperatura podem levar a decomposição térmica do nitrato, que, dependendo da formulação pode ser extremamente exotérmica (ou mesmo explosiva). Chen e colaboradores (2012) realizaram um estudo de avaliação do perigo térmico da reação de nitração do iso-octanol pela rota (a). Estes estudos foram impulsionados após uma tragédia ocorrida em uma fábrica na China em 1998, pela explosão ocasionada durante a reação de nitração deste álcool. Neste estudo, os autores concluíram que a temperatura crítica era na faixa de 45 °C a 55 °C, mas que as reações devem ser operadas a temperaturas controladas, inferiores a 10 °C, para minimizar os riscos, podendo operar em escala industrial. Chen et al. (2012) recomendam também que a síntese

seja realizada em tempos curtos, para evitar riscos operacionais e queda de rendimento, por ocorrência de decomposição do nitrato já formado no meio ácido.

A vantagem da utilização da rota (b), entre outros fatores, está na redução do teor de água no sistema, pois apresenta-se praticamente isenta no ácido nítrico concentrado (fumegante) e no anidrido acético, pois, como apresentado no trabalho de Shen *et al.* (2009), quanto maior for a quantidade de água no meio reacional, menor será a conversão da reação. Suppes e Dasari (2003) também recomendam a rota (b), pois é preferida a utilização de anidrido acético em vez de ácido sulfúrico por causa de uma seletividade melhorada para os nitratos, reduzida oxidação, e capacidade para nitrar os produtos a temperaturas superiores.

Shen *et al.* (2009) investigaram também outros fatores envolvidos na reação de nitração e verificaram que as maiores taxas de conversão ocorrem em temperaturas na faixa de 15 – 25 °C, porém, como já mencionado, esta não é uma temperatura segura para a realização da reação. Outro parâmetro verificado foi a razão ácido nítrico/ álcool, considerando-se ideal uma taxa molar de 2:1.

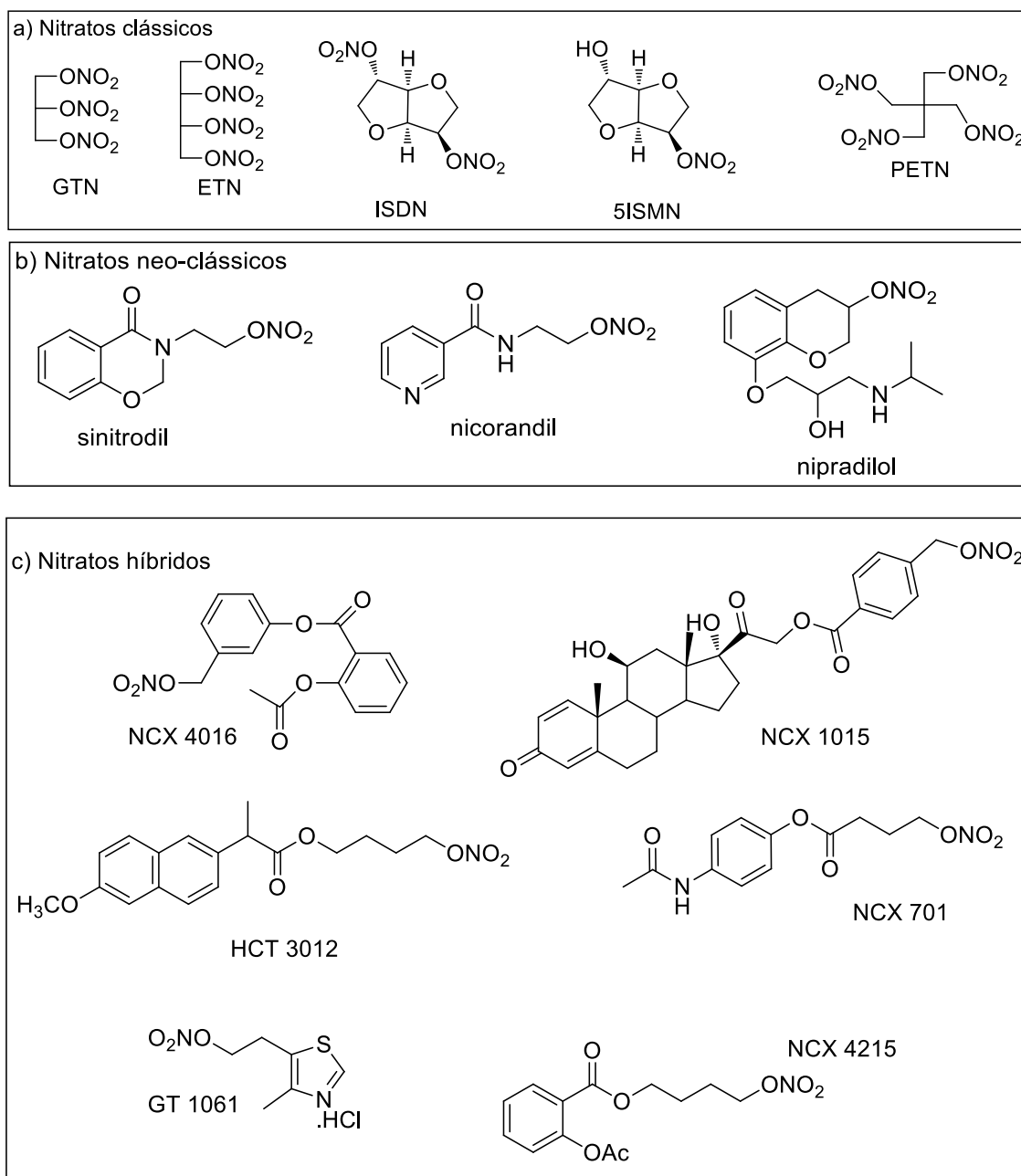
Nosso grupo de pesquisa realizou planejamento para otimização do processo de obtenção do nitrato de tetrahidrofurfurila (NTHF), que vem sendo aplicado satisfatoriamente na síntese de outros nitratos alquílicos. Adotou-se a rota (b), utilizando a solução nitrante $\text{HNO}_3/\text{Ac}_2\text{O}$ com 20% de excesso molar em relação ao álcool, temperatura de reação inferior a 10 °C e tempo de reação não excedendo 20 minutos (ATHAYDE-FILHO *et al.*, 2006).

3.4 POTENCIALIDADES FARMACOLÓGICAS

Os nitratos orgânicos apresentam inúmeras aplicações fármaco-terapêuticas, com destaque para o tratamento de problemas cardiovasculares, tais como angina (NEEDLEMAN, 1976), infarto agudo do miocárdio (JUGDUTT, 1992), insuficiência cardíaca congestiva (LEIER *et al.*, 1981), controle da pressão sanguínea arterial (WANG *et al.*, 2002), isquemia (GORI *et al.*, 2007), hipertrofia ventricular (LI; WANG, 2013) e hipertensão pulmonar (MENTZER *et al.*, 1995), além de tratamento de fissura anal em crianças (WANG *et al.*, 2002), potencial substituição do sildenafil (Viagra®) (DE MAY, 1998), anti-inflamatório para tratamento de Síndrome do Intestino Irritável (RHODE, 1999), terapia em casos de pré-eclampsia (NAKATSUKA

et al., 1999), atenuante da progressão da arteriosclerose (OSINSKI; RAUCH; SCHRÖR, 2001) tratamento de complicações apresentadas por portadores de *Diabetes Melitus* (OLZE *et al.*, 2010), no tratamento da osteoporose (HAMILTON; REID; JAMAL, 2013) e doenças neurológicas (THATCHER, 2007). Os principais nitratos orgânicos com aplicação clínica (e uso comercial) estão apresentados na Figura 1.

Figura 1– Fórmulas estruturais de (a) nitratos clássicos, (b) nitratos neo-clássicos, (c) nitratos híbridos.



Fonte: Adaptado de Thatcher (2007).

Os nitratos clássicos continuam sendo utilizados para o tratamento de problemas cardiovasculares, principalmente a angina, apesar dos quadros de tolerância registrados para estes compostos (THATCHER, 2007). Os nitratos híbridos são tema de diversos estudos pré-clínicos e clínicos, apresentando a vantagem de associar efeitos, sendo aplicados principalmente como anti-inflamatórios, anti-hipertensivos e no tratamento de glaucoma (THATCHER, 2007), a exemplo do NCX 4016, apresentado na Figura 1, que é derivado do ácido acetilsalicílico e vem sendo aplicado em tratamento de adenocarcinoma gástrico (TESEI et al, 2003) e tromboembolismo pulmonar (GUGLIETA, 2012). Os nitratos neoclássicos apresentam maior seletividade no seu mecanismo de ação, a exemplo do Nipradilol (Figura 1) que é utilizado na prevenção de glaucoma, por apresentar atividade como vasodilatador ocular (THATCHER, 2007).

Os estudos que visam novas formulações de nitratos estão levando em consideração os multimeios de ativação e os possíveis efeitos pleiotrópicos (LIAO; LAUFS, 2004). As alterações estruturais também são vislumbradas por permitirem a seletividade de ação destes compostos, ao serem bioativadores de enzimas diversificadas em condições fisiopatológicas diferenciadas.

Desde os estudos realizados por Needleman na década de 70 (NEEDLEMAN, 1976), até as projeções mais recentes (MOLLACE *et al.*, 2014; FRANÇA-SILVA *et al.* 2014) a atividade farmacológica dos nitratos são estabelecidas em função de sua capacidade de liberação de óxido nítrico no organismo.

Dependendo da sua formulação, os nitratos orgânicos podem desempenhar inúmeras funções no organismo, porém, ao generalizar, pode-se afirmar que os nitratos atuam como vasodilatadores e venodilatadores. Segundo Klemenska e Beresewicz (2009), quando utilizados em baixa dosagem, os nitratos orgânicos induzem a venodilatação periférica, redistribuindo o fluxo sanguíneo durante a curta circulação, aumentando o relaxamento durante a diástole e, conseqüentemente a pressão de pré-carga. Quando utilizados em doses maiores atuam como vasodilatadores, minimizando a pressão da sístole durante a pós-carga. Estes efeitos culminam na redução da necessidade de oxigênio pelo miocárdio, reduzindo o trabalho cardíaco no momento crítico (BELLISARII *et al.*, 2012; OMAR; ARTIME; WEBB, 2012).

Outras aplicações já citadas também são descritas via óxido nítrico, a exemplo da potencialidade dos nitratos no tratamento da osteoporose que, segundo Jamal e equipe (2013), a vasodilatação induz efeitos locais similares à carga mecânica nos ossos, gerando uma tensão de cisalhamento que libera o fluido de ativação da proteína G ligada a mecanorreceptores em osteócitos. O óxido nítrico (NO) atua como um mensageiro para os osteoblastos e osteoclastos, sinalizando a necessidade de formação ou reabsorção de células ósseas. Neste estudo, a utilização do trinitrato da glicerina favoreceu um aumento de massa óssea por inibição da esclerostina.

Li e Wang (2013) apontam também a vantagem da utilização dos nitratos orgânicos para o tratamento de doenças cardiovasculares em pacientes com insuficiência renal, por dois fatores: a rápida decomposição e consequente eliminação do organismo e atuação como reguladores do sistema cardiovascular, favorecendo a regressão da hipertrofia ventricular esquerda.

3.4.1 Óxido Nítrico (NO)

O óxido nítrico (NO) é um radical livre, inorgânico, incolor, gasoso, altamente reativo, com tempo de meia vida relativamente curto (MONCADA; PALMER; HIGGS, 1991) e representa uma das menores e mais simples moléculas biossintetizadas.

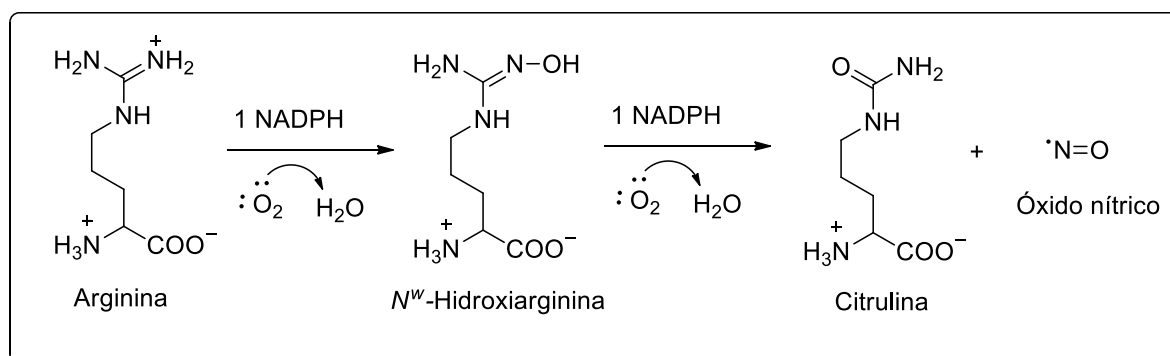
Em 1992 o óxido nítrico foi considerado a molécula do ano pela revista *Science* (CAI; WANG; HOLDER, 2005) e em 1998 o prêmio Nobel de Medicina foi concedido a Louis J. Ignarro, por estudos que comprovavam a relação entre o óxido nítrico e problemas cardiovasculares. Estas premiações permitiram o reconhecimento da importância da descoberta do NO nos organismos vivos (THATCHER, 2007).

Cai e colaboradores (2005) consideram o óxido nítrico como “*a magic free radical gas molecule*”, que participa de inúmeros processos fisiológicos e fisiopatológicos, com especial destaque para o relaxamento da musculatura lisa vascular, com inibição da coagulação sanguínea, regulação da pressão arterial sistêmica, do fluxo sanguíneo e do tônus vascular, além de influenciar na

neurotransmissão e regulação do sistema imunológico (CAI *et al.*, 2005; ALZAWAHRA, *et al.*, 2008).

O NO é pouco solúvel em água e instável diante de agentes oxidantes, o que torna difícil sua introdução direta em sistemas biológicos (CAI; WANG; HOLDER, 2005). Daí a importância do desenvolvimento e aplicação de drogas classificadas como doadores de NO que mimetizam o papel desta molécula nos organismos, dentre as quais destacam-se os nitratos orgânicos. Cai, Wang e Holder (2005) afirmam que o NO só apresenta produção endógena a partir do catabolismo da arginina para a citrulina, como apresentado no Esquema 6.

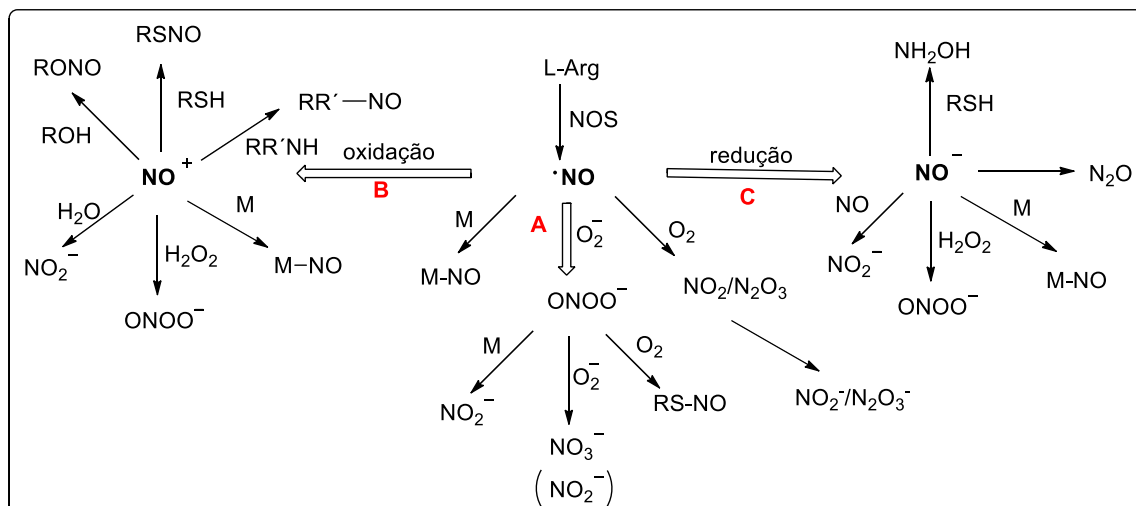
Esquema 6 – síntese endógena de óxido nítrico.



Fonte: Cai; Wang; Holder, (2005).

O NO pode ser submetido tanto à oxidação quanto a redução em meio biológico, dando origem a outras espécies nitrogenadas igualmente reativas (Esquema 7), justificando as inúmeras ações desta molécula no organismo. A reação de oxidação ocorre rapidamente na presença de gás oxigênio, superóxidos e metais de transição originando o nitrosônio (NO^+), que reage com nucleófilos para a produção de outras espécies ativas. A reação de redução dá-se por transferência de um elétron formando o íon nitroxil (NO^-), que converte-se a N_2O em condições fisiológicas.

Esquema 7 – Oxidação e redução de espécies reativas do nitrogênio.



Fonte: Cai; Wang; Holder, (2005).

3.4.2 Mecanismo de Ação

Os nitratos orgânicos são ativados muito rapidamente pelo organismo (OMAR; ORDIBE; WEBB, 2012), a exemplo do trinitrato da glicerina que é desnitrado via metabolismo hepático logo após sua aplicação ($t_{1/2} \sim 1$ minuto) (GOVONI; TOCCHETTI; LUNDBERG, 2013) por isso são utilizados em casos de infarto agudo do miocárdio e ataque de angina. Porém são também removidos do plasma muito rapidamente (15 – 30 minutos) (OMAR; ARTIME; WEBB, 2012), requerendo a ingestão de novas doses, em tempo mais curto.

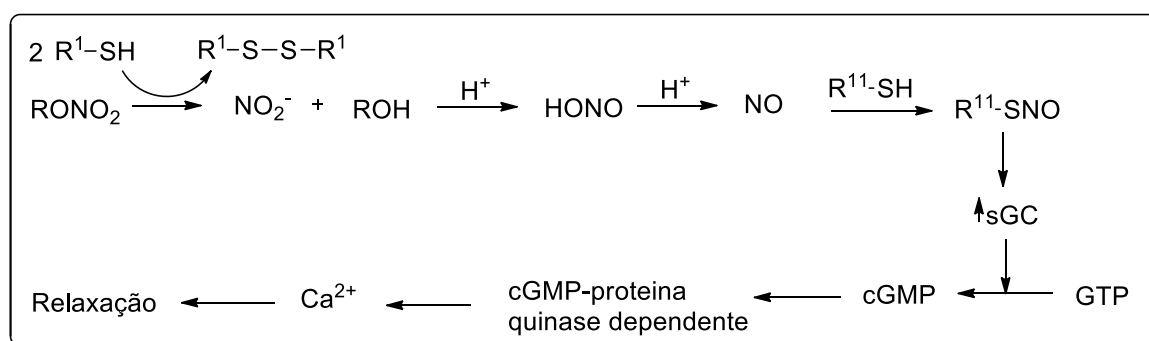
Omar e colaboradores (2012) lembram que o mecanismo de ação dos nitratos não está totalmente compreendido e varia de acordo com o radical orgânico e o número de grupos nitrato ($-\text{ONO}_2$) presentes na molécula.

De modo geral, França-Silva *et al.* (2014) resume o mecanismo de ação dos nitratos orgânicos, que é consenso na maioria das publicações sobre o assunto, afirmando que eles atuam como doadores de NO, em sistemas biológicos, não apresentando atividade fora dos sistemas celulares, constituindo-se como pró-drogas, que necessitam ser ativadas por sistemas enzimáticos ou não-enzimáticos.

Segundo Harrison (2005), o mecanismo de conversão dos nitratos orgânicos em óxido nítrico apresentado na maioria dos estudos dá-se via grupos

tióis, que convertem-se a dissulfetos liberando o ânion nitrito (NO_2^-), que, por sua vez, em meio ácido converte-se a NO. Em sequência, o óxido formado reage novamente com tióis produzindo nitrotióis, que são as moléculas consideradas responsáveis pela ativação da enzima guanilato ciclase solúvel (GCs), que atua na conversão do trifosfato de guanosina (GTP) em monofosfato de guanosina cíclico (GMPc), que ativa uma enzima do tipo proteína quinase (GKc-I), responsável pela vasodilatação, via diminuição da concentração de íons Ca^{+2} (Ca^{+2} channel) (Esquema 8).

Esquema 8 – Mecanismo simplificado do efeito de vasorrelaxamento promovido por nitratos orgânicos.



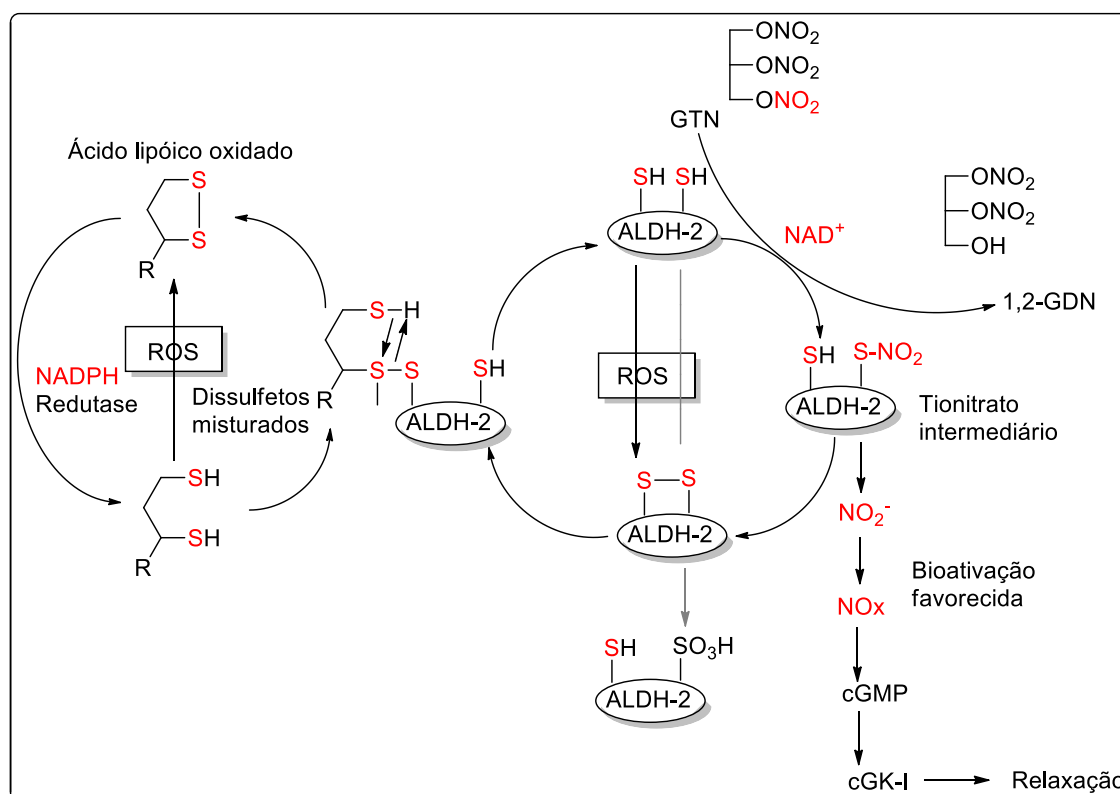
Fonte: Adaptado de Harrison (2005) e Olze *et al.* (2010).

Mesmo nos estudos mais recentes (OLZE *et al.*, 2010; TSOU *et al.*, 2011, FRANÇA-SILVA *et al.* 2014, MOLLACE *et al.*, 2014), há um consenso sobre a dependência dos tióis no mecanismo da decomposição de nitratos até a formação de NO. O que se tem buscado entender é a ativação desta etapa de reação, qual enzima estaria catalisando e como o processo difere para cada formulação de nitrato. A bioativação enzimática envolve um número crescente de enzimas, com destaque para a glutathione-S-transferase, xantina redutase, citocromo P450 e a aldeído desidrogenase (ALDH) na sua isoforma mitocondrial (ALDH2 ou mtALDH) (TSOU *et al.*, 2011).

Daiber e colaboradores (2008) sugeriram que o mecanismo de ativação dos nitratos depende também da dosagem aplicada, considerando-se que o limiar deste percurso é da ordem de $10\mu\text{M}$, de modo que concentrações inferiores a este valor tendem a ser metabolizadas via ALDH2 (Esquema 9) e para dosagens superiores propõe-se outras rotas, a exemplo das hemoproteínas monooxigenases

da classe do citocromo P450. Scatena e equipe (2010) propuseram que o caminho para a ativação dos nitratos dependerá da afinidade da molécula pela enzima e delimitam a potência do nitrato como fator determinante, de modo que os compostos considerados menos potentes como os nitratos de isossorbida são ativados via citocromo P450 e os de maior potência como o trinitrato de glicerina são ativados pela ALDH2.

Esquema 9 – Proposta de mecanismo de bioativação dos nitratos orgânicos por ALDH2.



Fonte: Gori e Daiber (2009).

3.4.3 Tolerância

A tolerância aos nitratos é um efeito hemodinâmico apresentado após uso crônico destas formulações.

Estudos sugerem que a tolerância aos nitratos dá-se quando ocorre estresse oxidativo no sistema vascular associado com disfunção endotelial (CSONT, 2010; THUM *et al.*, 2011, DAIBER *et al.*, 2012), que provoca a diminuição da biodisponibilidade de NO e aumento da formação de peroxinitritos (OLZE *et al.*, BRANDÃO, M. C. R.

2010), e pode ser minimizada pelo uso de agentes anti-oxidantes concomitantemente (GORI et al., 2010, MOLLACE et al., 2014).

Wei e colaboradores (2011) propõem o uso intermitente dos nitratos para prevenir o desenvolvimento da tolerância. Segundo Daiber et al. (2012), o termo estresse oxidativo é definido por uma condição de aumento dos níveis de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e/ou redução das espécies antioxidantes do sistema celular induzindo um desequilíbrio das condições de oxirredução das células. Daiber e colaboradores (2012) apresentam a enzima hemeoxigenase-1 (HO-1) como um importante marcador do estresse oxidativo e do desenvolvimento de tolerância aos nitratos. Dulce e equipe (2013) sugerem o uso concomitante da hidralazina para corrigir o balanço redox.

O fenômeno de tolerância leva à perda rápida de seus efeitos hemodinâmicos e anti-isquêmicos em tratamentos prolongados. Os mecanismos que desencadeiam este fenômeno ainda permanecem incertos e parecem diferir entre os diferentes compostos doadores de NO. Acredita-se que este processo seja multifatorial e que possa envolver redução da biotransformação enzimática do nitrato a NO, aumento na síntese de espécies reativas de oxigênio, redução da atividade da enzima GCs e/ou aumento da expressão e atividade das enzimas de degradação do GMP, as fosfodiesterases (THATCHER, 2007, MOLLACE et al., 2014).

Desde a década de 70 vários estudos estão voltados para a compreensão dos mecanismos de ação dos nitratos e as causas do desenvolvimento da tolerância a estes compostos. Estudos recentes têm apresentado discrepâncias nos resultados quando analisados os nitratos clássicos. Estes estudos mostram que, ao contrário dos demais, o tetranitrato de pentaeritritil não gera os mesmos efeitos quando em uso crônico (DAIBER *et al.*, 2008; GORI e MUNZEL, 2009; GORI E DAIBER, 2009; GRIESBERGER *et al.*, 2011; LISI *et al.*, 2012), como apresentado na conclusão do artigo publicado por Lisi e colaboradores (2012), afirmando que este nitrato não gera tolerância hemodinâmica e este fato está associado às propriedades farmacodinâmicas e antioxidantes de sua estrutura molecular.

Tsou e colaboradores (2011) propõem que a inativação da ALDH2 seja o principal marcador da tolerância aos nitratos. Esta afirmação corrobora com o fato do tetranitrato de pentaeritritil não promover a diminuição dos níveis e inativação da

ALDH2, podendo ser esta a reação de seu uso crônico não levar à tolerância hemodinâmica, pois a sua ativação não depende desta enzima.

Thatcher (2007) aponta os quatro principais fatores para a ocorrência da atenuação da bioativação dos nitratos: [1] indução do estresse oxidativo pela biotransformação dos nitratos, que aumenta a atividade da oxidase vascular; [2] atividade irregular da fosfodiesterase reduzindo os níveis de GMPc; [3] perda da atividade de resposta da GCs ao NO e [4] diminuição da concentração de tióis intracelular.

Mesmo diante de tantos estudos, Mollace e colaboradores (2014) afirmam que o exato mecanismo de bioativação dos nitratos orgânicos e o desenvolvimento da tolerância continuam obscuros. Citam que muitos eventos fisiopatológicos estão sendo analisados para desvendar o dispositivo da tolerância aos nitratos nos últimos anos, destacando-se fatores como: ajuste neuro-hormonal ocasionado por aumento do nível de catecolaminas; aumento nos níveis de vasopressina no plasma; elevação do volume intravascular e ativação do sistema renina-angiotensina.

Os demais fatores adversos relatados para o uso dos nitratos são pouco recorrentes e menos significativos que o efeito da tolerância. Wei *et al.* (2011) apontam dores de cabeça, hipotensão, pré-síncope ou síncope, depressão e reações mínimas no trato gastrointestinal.

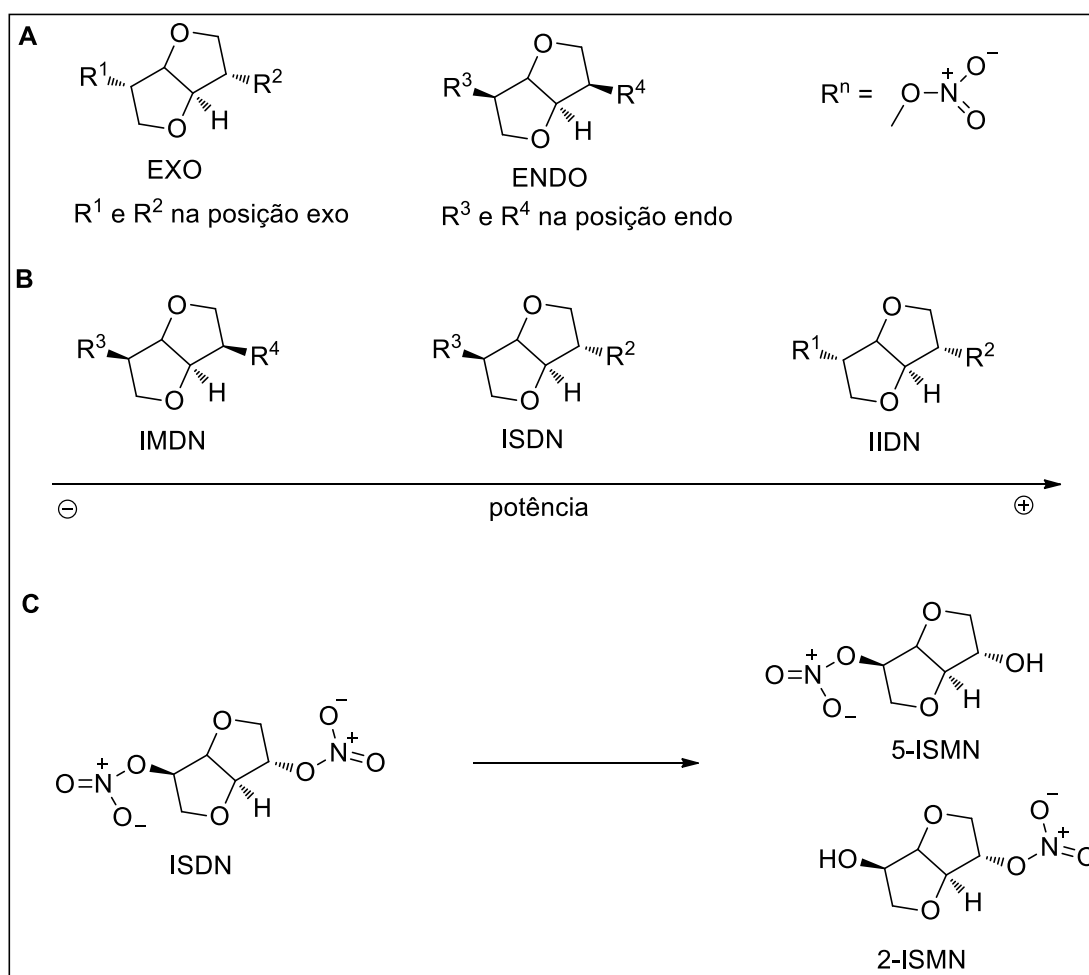
3.4.4 Novos Nitratos com Potencial Farmacológico

A variação no comprimento e volume do grupo substituinte ligado ao nitrato influenciam nas propriedades lipofílicas dos mesmos (OMAR; ARTIME; WEBB. 2012), modificando, conseqüentemente o seu veículo de ação no organismo, além de sua forma de administração (oral, sublingual, retal ou transdérmica) (BODEBORGER; KOJDA, 2005).

O número de grupos nitrato na molécula está associado a sua potência, quanto maior a quantidade de ONO_2 , maior será o potencial vasodilatador da droga (WENZEL *et al.*, 2007). Porém, o estudo realizado por Koenig *et al.* (2007) mostra que o tetranitrato de pentaeritritil é uma exceção a este princípio e apresenta-se como um vasodilatador mais fraco que o trinitrato da glicerina.

A estereoquímica da molécula também influencia em seu potencial, a exemplo dos nitratos de isossorbide, que podem apresentar o grupo funcional em posição *endo* ou *exo*. Koenig e colaboradores (2007b) sugerem que estando o grupo ONO_2 em posição *exo* (Figura 2) a bioativação é favorecida, o que torna os compostos com esta estereoquímica mais potentes que os correspondentes *endo*. Mas ambos os compostos são utilizados, dependendo da finalidade do tratamento, pois a conformação *endo* apresenta efeito prolongado e lento no organismo, enquanto a conformação *exo* tem ação mais rápida e é eliminado do plasma sanguíneo em metade do tempo (~2,5 horas) (OMAR; ARTIME; WEBB, 2012).

Figura 2 – (a) Diastereoisômeros do dinitrato de isossorbida; (b) Exemplos das posições *endo* e *exo* de dinitratos; (c) metabolismo do ISDN com formação das espécies metabólicas ativas – 5-ISMN (*endo*), administrado terapeuticamente e o 2-ISMN



Fonte: Omar, Artime, e Webb (2012).

A presença de outros grupos funcionais nos nitratos (nitratos híbridos) também ocasionam variação nas suas propriedades e veículos de bioativação. A

exemplo do nicorandil e sinitrodil que são ativados via K^+ (bomba de potássio), tendo sido o primeiro planejado para aumentar a vasodilatação e o segundo com ação anti-angina, com atividade vasorelaxante diminuída (OMAR; ARTIME; WEBB, 2012).

Chegaev e colaboradores (2009) propuseram uma nova série de nitratos obtidos a partir dos nitratos de glicerina, por introdução do grupo fenila na molécula. Compararam seus efeitos com a molécula de referência, o trinitrato da glicerina e observaram que as novas formulações foram de 4 a 10 vezes menos potentes, mas com a mesma ação vasodilatadora.

Além do problema da tolerância, estudos detalhados e novas formulações são requeridas para evitar a inativação da enzima aldeído dehidrogenase (ALDH2), que, segundo estudo realizado por Chen *et al.* (2008), previne a propagação de danos isquêmicos em caso de infarto agudo do miocárdio, de modo que a conservação desta enzima é de grande importância para tratamentos de isquemia a longo prazo. Olze e colaboradores (2010) citam estudos comparativos entre os nitratos clássicos e propõem que entre eles apenas o tetranitrato de pentaeritritil não desativa a ALDH2.

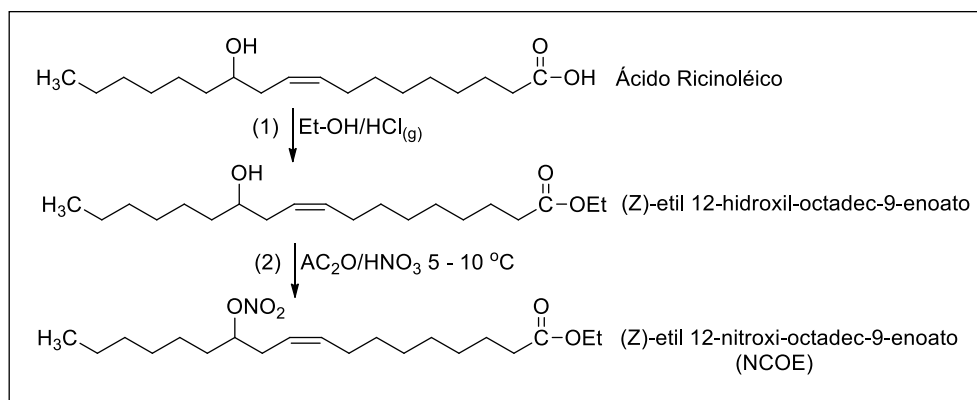
As novas formulações objetivam aplicações mais seletivas para o tratamento de problemas cardiovasculares específicos e outras doenças. A variação na estrutura molecular visam novos meios de bioativação e bioatividade, associada a efeitos sinérgicos positivos. Thatcher (2007) enfatiza também que as novas formulações devem promover uma liberação contínua e gradativa de óxido nítrico no organismo, possibilitando ação prolongada da droga.

Wang *et al.* (2013) sintetizaram uma série de nitratos orgânicos a partir da luteolina e analisaram sua potencialidade como inibidor da enzima aldose redutase, que é responsável pelo metabolismo de polióis. A inibição desta enzima é desejável em pacientes diabéticos, pois minimiza a disponibilidade de monossacarídeos na corrente sanguínea e consequentemente a progressão das complicações geradas por esta patologia.

Machado e colaboradores (2014) apresentaram resultados de testes realizados *in vitro* e *in vivo* (em camundongos) utilizando uma nova formulação de nitrato orgânico, o NCOE, sintetizado por nosso grupo de pesquisa. A molécula tem como base o éster etílico do ácido ricinoléico, obtido do óleo de mamona (Esquema 10). Neste estudo foi verificado o veículo de ativação do NCOE, e sua ação sobre os

vasos sanguíneos. O grupo de pesquisa concluiu que o NCOE é ativado pela ALDH2, e o mecanismo de ação responsável pela vasodilatação envolve a liberação de NO, ativação da guanilina ciclase solúvel (GCs) e ativação dos canais de K^+ . Verificou-se também que o NCOE é um eficiente vasodilatador, promovendo um efeito vasorrelaxante prolongado.

Esquema 10 – Rota sintética de obtenção do NCOE.

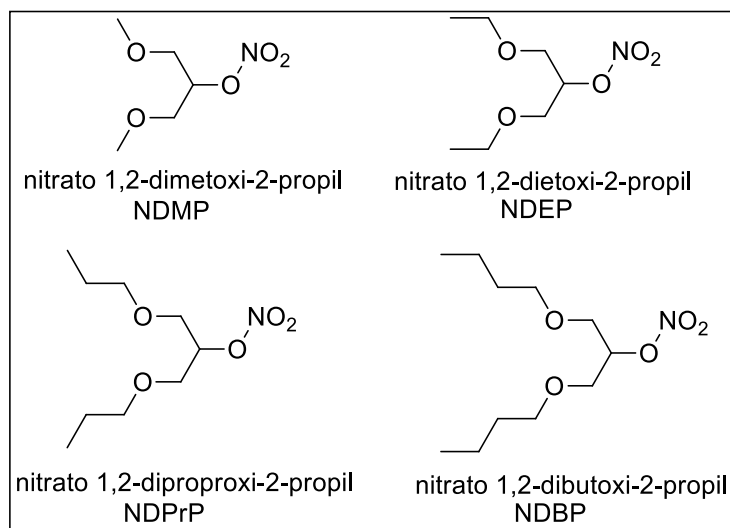


Fonte: Machado et al. (2014).

França-Silva *et al.* (2014) apresentam os resultados de testes realizados com uma série de nitratos (Figura 3) também sintetizados por nosso grupo de pesquisa, preparados reaproveitando a glicerina gerada nas reações de obtenção de biodiesel. Todos os nitratos da série apresentaram-se eficientes como promotores de vasorrelaxamento, com efeitos que aumentaram com o aumento da dosagem e com aumento da cadeia carbônica.

Os testes iniciais (FRANÇA-SILVA *et al.*, 2012a) mostraram que o NDBP, que apresenta a maior massa molecular, apresentou resultados muito satisfatórios, com uma inusitada propriedade de ativação dos neurônios vagais cardíacos, que são responsáveis pelo controle do ritmo cardíaco. Estes autores enfatizaram que estas células nervosas são estimuladas por um grupo muito restrito de drogas. O NDBP também apresentou ação hipotensora por aumento do fluxo simpático para periferia (FRANÇA-SILVA *et al.*, 2012a). A exemplo do NCOE, o NDBP atua liberando NO, promovendo a ativação da GMPc (monofosfato guanosina ciclase), culminando no desbloqueio dos canais de K^+ (FRANÇA-SILVA *et al.*, 2012b).

Figura 3 – Fórmula estrutural dos novos nitratos orgânicos obtidos a partir da glicerina.



Fonte: França-Silva et al. (2014).

Queiroz e colaboradores (2014) deram continuidade aos testes realizados por França-Silva *et al.* (2012a, 2012b), comparando a ação do NDBP com o trinitrato de glicerina e concluíram que a nova formulação apresenta a vantagem de não promover a taquicardia durante o alívio da angina, ao contrário da formulação de referência.

Testes *in vitro* de indução de tolerância com o NDBP mostraram que esta formulação não desenvolveu este efeito adverso, sugerindo que esta molécula apresenta um grande potencial terapêutico para doenças cardiovasculares (FRANÇA-SILVA *et al.*, 2014).

3.5 MATÉRIA-PRIMA PARA A SÍNTESE DE NITRATOS

Para o design de novos nitratos orgânicos é necessário que seja considerada a cadeia carbônica que pretende-se associar ao grupo nitrato, uma vez que influencia diretamente em sua ação, tanto quando a aplicação pretendida é como melhorador de cetano (SUPPES; DASARI, 2003), quanto para síntese de fármaco com potencial vasodilatador (KOENIG, 2007; OMAR; ARTIME; WEBB. 2012). Um vasto grupo de materiais podem ser aplicados como base para a obtenção do radical orgânico planejado, mas é de extrema importância que a matéria-prima escolhida atenda a alguns pressupostos, com destaque para

possibilidade de incorporação de outros grupos funcionais com atividade biológica reconhecida, que poderão gerar efeitos sinérgicos desejáveis e atender aos parâmetros da Química Verde.

O uso de matérias-primas oriundas de aproveitamento da biomassa e sub-produtos da indústria de biocombustíveis caracteriza-se como uma excelente fonte de C – C para a síntese de novos nitratos orgânicos, com destaque para a glicerina, óleo fúsel e furfural.

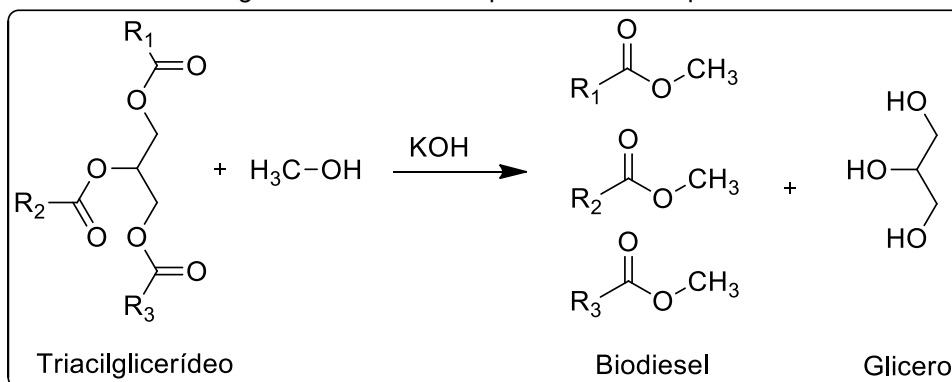
3.5.1 Glicerina

O termo glicerina aplica-se aos produtos comerciais purificados, normalmente, contendo pelo menos 95% de glicerol (nomenclatura usual para o propano-1,2,3-triol) (MOTA et al, 2009). Segundo Knothe e demais autores (2006) do livro *Manual do Biodiesel*, vários níveis e designações de glicerina estão disponíveis comercialmente, diferindo em seu conteúdo de glicerol e em outras características, tais como cor, odor e impurezas. Quando oriunda do processo de produção de biodiesel (Esquema 11), é denominada “glicerina loira”, composta por cerca de 80% de glicerol e ácidos graxos eventualmente formados no processo, por ação dos ácidos utilizados para neutralização do biodiesel (quando preparado pelo método convencional – catálise homogênea básica) (KNOTHE et al, 2006).

O aumento na utilização de biodiesel mundialmente tem gerado um excedente de glicerina não absorvida pelos processos convencionais de uso deste produto, requerendo assim o estudo de novas aplicações, como afirma Stalsmeden e colaboradores (2016). Apenas no Brasil, com o atual incremento no percentual de biodiesel incorporado ao óleo diesel, que passou para B8 desde março de 2017 (BRASIL, 2017) e aumento gradual até B10 em 2019, estabelecido pela Lei 13.263/2016, estima-se um adicional de glicerina no mercado da ordem de 34 mil toneladas/ano, uma vez que o país tem produzido uma média de 351 mil m³ de biodiesel (PORTAL BRASIL, 2017) para atender a esta demanda, e considerando que, em média 1 kg de glicerol bruto é obtido para cada 9 kg de biodiesel (com densidade média considerada 0,85g/cm³) (CHIU et al., 2006), por consequência estão sendo pesquisados novos processos para o aproveitamento deste co-produto de acordo com Karinen e Krause (2006), pois a crescente produção do biodiesel faz

com que a glicerina se torne um recurso abundante, sendo necessário transformá-la em produtos de maior valor agregado.

Esquema 11 – Obtenção de glicerol como co-produto da transesterificação metanólica de triacilglicerídeo catalisada por hidróxido de potássio.



Fonte: adaptado Mota et al. 2009

Deste modo, a gliceroquímica – ramo da Química dedicada ao desenvolvimento de produtos derivados da glicerina, tem ganhado força, com um número expressivo de publicações na última década.

A molécula do glicerol é bastante versátil pela presença das múltiplas hidroxilas e pela simetria da molécula (STALSMEDEN et al., 2016), permitindo inúmeras possibilidades de reação, com destaque para a síntese de acetais (GARCIA et al., 2008), produção de ésteres e éteres (JEROME et al., 2008, DAVIES et al., 2016), obtenção de acroleína e ácido acrílico (KATRYONIK et al., 2013), produtos de oxidação (KATRYONIK et al., 2011), obtenção de epicloridrina, conversão a 1,2 ou 1,3-propanodiol (TANIELYAN et al., 2011), obtenção de carbonatos (HERVERT et al., 2014), monômero para polimerização (CIRIMINNA et al. 2015), além de poder ser utilizado como solvente em reações orgânicas (VIDAL e GARCIA-ALVAREZ, 2014) entre outras possibilidades.

3.5.2 Óleo Fúsel

O óleo fúsel é uma mistura de álcoois de cadeias normal e ramificada (SANCHEZ et al., 2016), com massa molar elevada (álcoois superiores, maiores que o etanol) (FERREIRA et al., 2013), tendo como componente majoritário o álcool

isoamílico (3-metilpentan-1-ol) (WEBB, 1952; VAUCLAIR et al., 1997; KUÇUK e CEYLAN, 1998; PÉREZ et al., 2001; CECCATO-ANTONINI e SILVA, 2002; AZANIA et al, 2003; NASCIMENTO et al., 2003; FERREIRA et al, 2013; SANCHEZ et al., 2016). O óleo fúsel é produto da transformação de aminoácidos pelas leveduras, durante a fermentação alcoólica em destilarias (BOTELHO, 1945), logo, trata-se de mais um co-produto do processo de obtenção de biocombustível, a exemplo da glicerina.

Estima-se que sejam gerados de 1 a 11 litros de óleo fúsel para cada 1000 litros de etanol anidro obtido numa destilaria (SANCHEZ et al., 2016), dependendo do tipo e método de preparação do caldo usado para a fermentação, condição e ambiente sob as quais a fermentação procede e o método de remoção de óleo fúsel (PATIL et al, 2002).

Como citado anteriormente, com a crescente demanda por biocombustíveis, a produção de etanol combustível vêm aumentando gradativamente mundialmente. Embora, no Brasil tenha sofrido uma queda na produção em relação a safra anterior em função do aumento do preço do açúcar, estima-se uma média de 28 bilhões de litros de etanol produzidos na safra 2016/2017, que gera um montante de óleo fúsel na ordem de 70 milhões de litros, considerando a média nacional de 2,5L/1000 L de etanol (PÉREZ et al., 2001).

O óleo fúsel tem como principal aplicação os processos de esterificação, para a obtenção de flavorizantes (FERREIRA et al., 2013), plastificante para policloreto de vinila (KÜÇÜK e CEYLAN, 1998), melhorador de cetano em mistura com óleo diesel (LEÃO, 2002), combate a ervas daninhas (AZANIA, 2007), mas o seu principal uso é como fonte de álcool isoamílico, que apresenta valor agregado muito superior ao etanol (FERREIRA et al, 2013), mas o processo de destilação para a separação deste álcool é relativamente complexo, por tratar-se de uma mistura azeotrópica, de modo que, as próprias destilarias de etanol não têm interesse em realizar e vendem o óleo fúsel bruto a baixo preço (GARCIA et al., 2016).

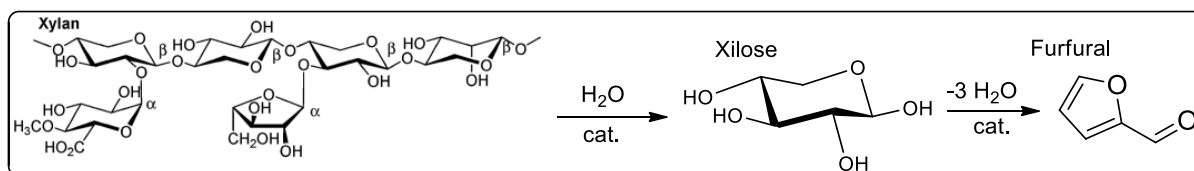
3.5.3 Furfural

O furfural é produzido a partir da hidrólise da hemicelulose (GANDINI, 2009), numa escala de 700 mil toneladas por ano (CHEN et al, 2017). A

hemicelulose é um dos constituintes da lignocelulose, que vem despontando como a plataforma química renovável, em substituição aos derivados do petróleo, com a vantagem de apresentar maior versatilidade molecular (GANDINI, 2009, LANGE et al., 2012).

O furfural é derivado de pentoses (C_5), principalmente a xilose e a arabinose (Esquema 12), contidas na hemicelulose de materiais lignocelulósicos. Estes materiais podem ser extraídos principalmente de rejeito de biomassa, a exemplo do sabugo de milho e cascas de arroz (LEE et al, 2017), que apresentam de 28 a 31% de xilose e 3% de arabinose, além do bagaço de cana-de-açúcar que apresenta composição média de 27% de pentosanas (teor inferior por já ter passado por processo de extração de açúcares) (DUTTA et al, 2012; LANGE et al, 2012).

Esquema 12– Obtenção do furfural a partir de xilanas separadas da hemicelulose



Fonte: adaptado de Dutta et al. (2012)

O processo de conversão da lignocelulose em seus monômeros ainda é o gargalo para as biorrefinarias (DUTTA et al., 2012, CHEN et al, 2017), assim como a purificação do furfural (LANGE et al., 2012), o que torna este composto relativamente caro, se comparado a outros derivados da biomassa, como o etanol. No entanto, a versatilidade desta molécula, permite que seja considerada um excelente bloco de construção química, a partir da qual inúmeras outras moléculas primárias podem ser obtidas.

Capítulo 4

ESTRATÉGIA SINTÉTICA

4. ESTRATÉGIA SINTÉTICA

O propósito deste estudo foi desenvolver novas formulações de nitratos orgânicos com potencialidades para atuar como fármaco, partindo de matéria-prima de baixo custo, principalmente de coprodutos da indústria de biocombustíveis e reaproveitamento de biomassa.

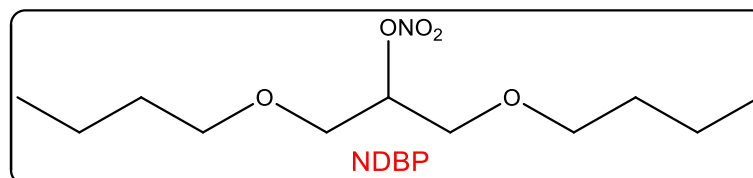


4.1 NITRATOS DERIVADOS DA GLICERINA

Tomando por base os resultados de outros estudos realizados por nosso grupo de pesquisa, foi planejada uma série de novos nitratos derivados da glicerina, com cadeia carbônica maior ou isomérica ao nitrato de 1,3-dibutoxiopropan-2-ila (NDBP) (Figura 4), que apresentou bom desempenho nos testes de atividade cardiovascular, conforme estudo publicado por França-Silva e colaboradores (2014). Este estudo mostrou que o aumento da cadeia carbônica influenciava diretamente

no aumento do desempenho destes compostos, frente a sua potencialidade vasodilatadora.

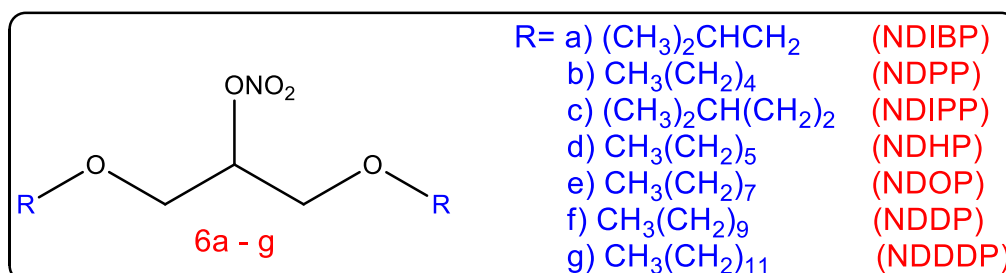
Figura 4- Fórmula estrutural do NDBP (nitrato 1,2-dibutóxi-2-propila)



Além da variação no tamanho da cadeia, a presença de ramificações, a estereoquímica e grupos funcionais distintos influenciam na potencialidade do fármaco e na seletividade em ação no organismo.

Foram planejados sete novos nitratos derivados da glicerina, como mostra a Figura 5 a seguir:

Figura 5 - Nitratos derivados da glicerina propostos neste trabalho

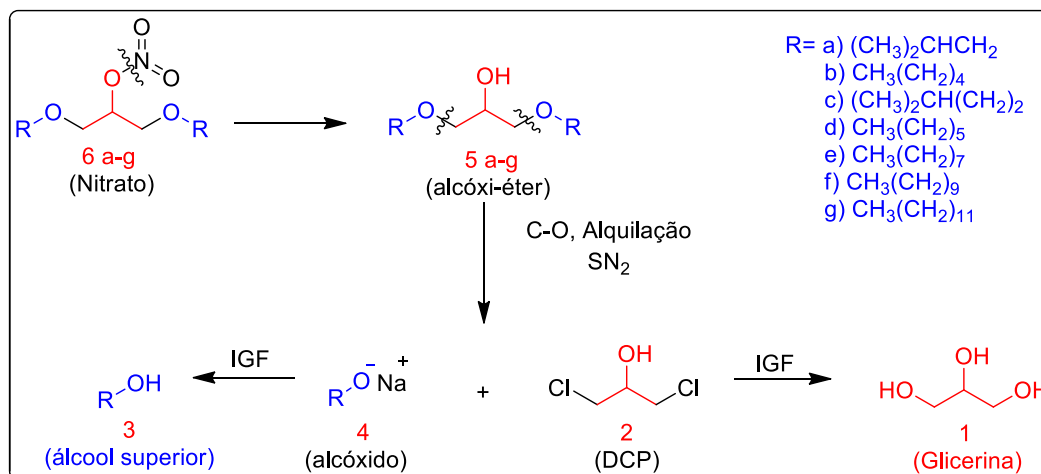


Para este fim, as hidroxilas primárias da glicerina (1) foram convertidas em éteres (5) e a hidroxila secundária foi alvo para a reação de nitração. No Esquema 13 é apresentada uma breve retrosíntese de algumas moléculas-alvo projetadas.

No Esquema 13 observa-se que a primeira desconexão consiste em uma nitração da hidroxila do alcóxi-éter (5a-g) formando o nitrato (6a-g). O alcóxi-éter é formado a partir de uma substituição $\text{S}_{\text{N}}2$ onde o oxigênio nucleofílico do alcóxido reage (4) com o 1,3-dicloropropan-2-ol (DCP) (2), conforme mecanismo da síntese de Williamson. O alcóxido é obtido a partir da reação de álcoois superiores (3)

derivados do óleo fúsel com sódio metálico. E o 1,3-dicloropropan-2-ol é obtido a partir da reação da glicerina (1) com ácido clorídrico gasoso.

Esquema 13 - Análise retrossintética das moléculas-alvo.

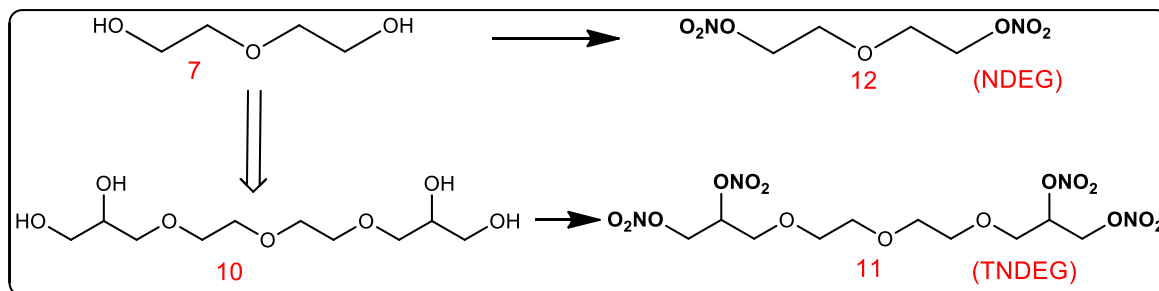


4.2 NITRATOS DERIVADOS DO DIETILENOGLICOL

Além da glicerina, foi planejado o uso de outros materiais de partida, para a síntese de nitratos, que atribuísssem aos mesmos outras propriedades. Para todos os compostos obtidos, buscou-se materiais de partida de baixo custo, com rotas sintéticas relativamente simples.

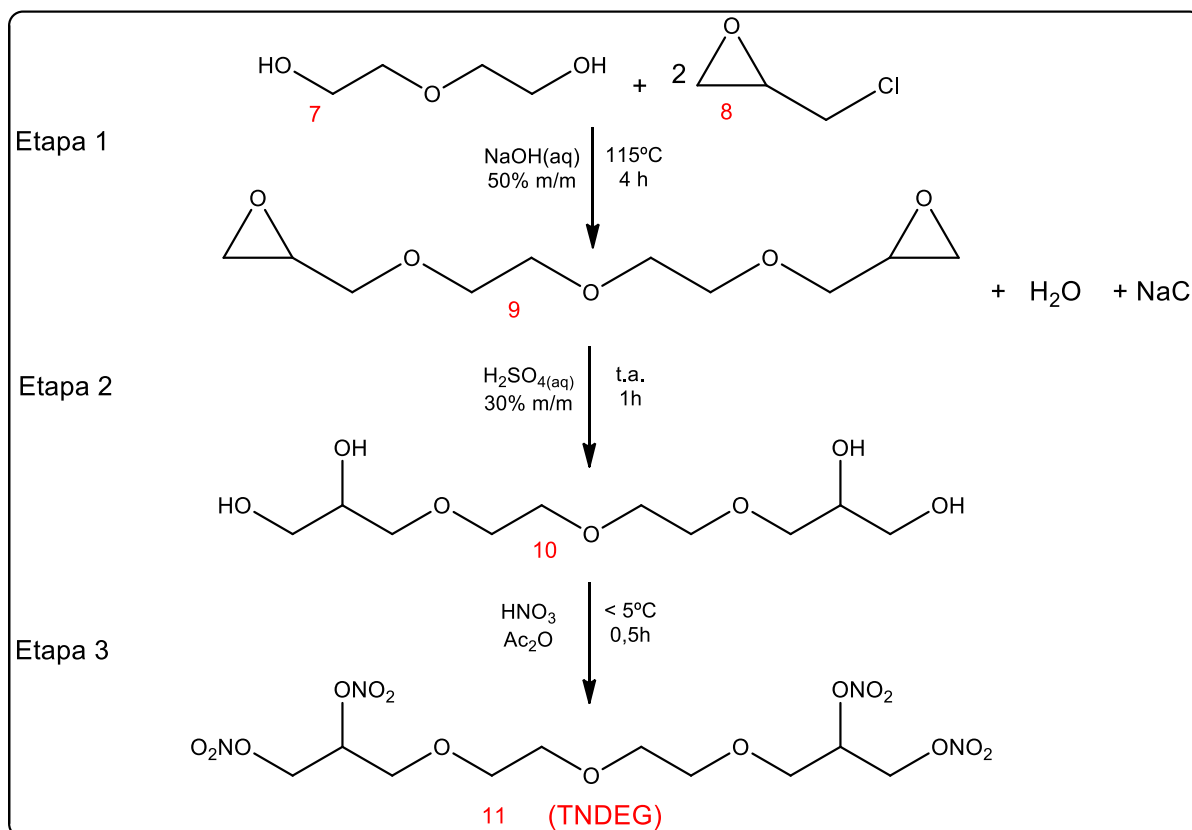
Foram planejados dois nitratos derivados do dietilenoglicol (Esquema 14), por nitração direta das hidroxilas do dietilenoglicol (12) e de um intermediário desenvolvido (11), para avaliação do aumento de atividade em função do aumento do número de grupos nitrato. O tetranitrato (11) planejado é uma molécula inédita e não foram identificados estudos de atividade cardiovascular para o dinitrato (12).

Esquema 14 - Nitratos derivados do dietilenoglicol



Para a síntese do tetranitrato proposto são necessárias três etapas de reações, como apresentado no esquema 15.

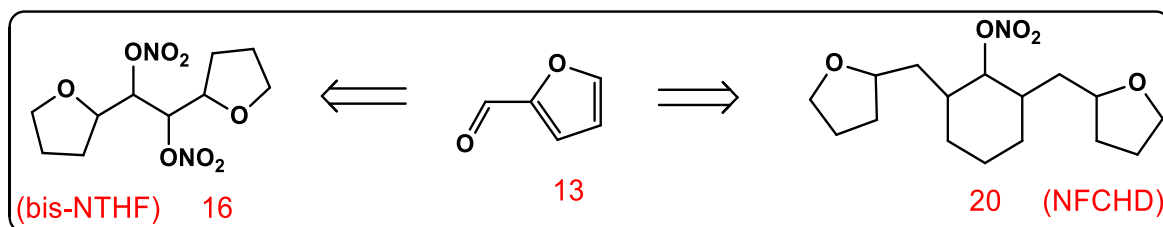
Esquema 15 - Metodologia de obtenção do Tetranitrato de (oxibis-etano-1,2-diila)bis(oxi)bis-propano-1,2,3-trila (11)



4.3 NITRATOS DERIVADOS DO FURFURAL

Com base nos nitratos da isossorbida (Figura 1a), que apresentam em sua estrutura o núcleo do hexahidrofurano, foram sintetizados dois mononitratos derivados do furfural (Esquema 16), que apresentam ciclos tetrahidrofurano.

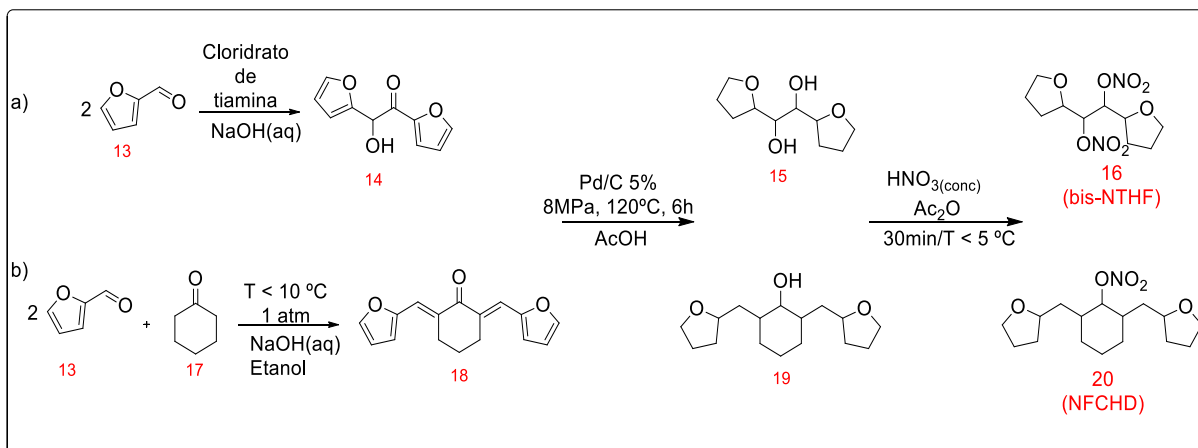
Esquema 16 - Nitratos derivados do furfural



Os estudos destes novos nitratos derivados do furfural foram impulsionados pelos excelentes resultados já obtidos para o NTHF (Nitrato de tetrahidrofurfurila), em relação a sua atividade cardiovascular (ALUSTAU, 2010).

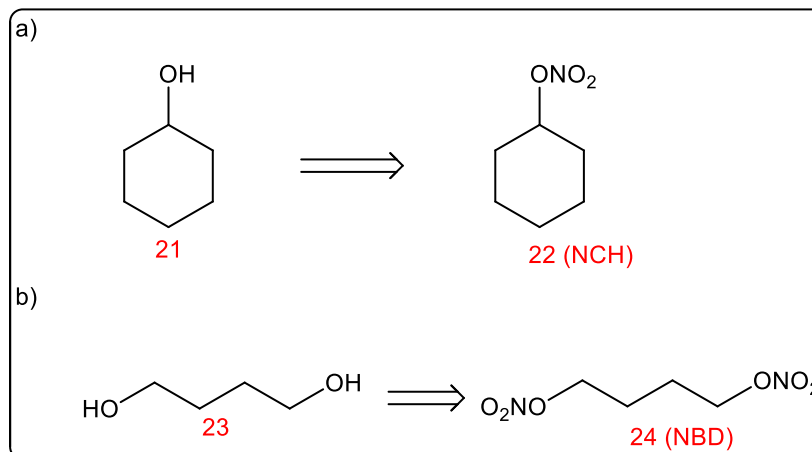
Para a síntese destes compostos foram inicialmente preparadas chalconas derivadas do furfural (14 e 18), as quais foram submetidas posteriormente a reação de hidrogenação, como apresentado no Esquema 17.

Esquema 17- Rota sintética para obtenção dos nitratos derivados do furfural. a) Síntese do dinitrato de 1,2-bis(tetrahidrofuran-2-il)etano-1,2-diila (16), b) Síntese do nitrato de 2,6-bis((tetrahidrofuran-2-il)metil)ciclohexila (20)



Para fins de estudo comparativo, foram sintetizados também os nitratos derivados do ciclohexanol (22) (Esquema 18a) e do butanodiol (24) (Esquema 18b), que, embora não sejam moléculas inéditas, podem apresentar aplicação distinta.

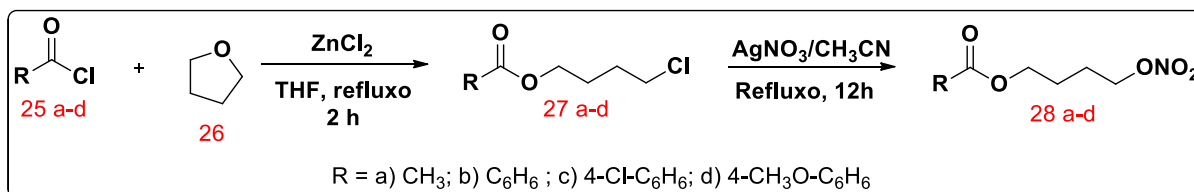
Esquema 18 - a) Nitrato derivado do ciclohexanol (NCH). b) Nitrato derivado do butanodiol (NBD).



4.5 NITRATOS ÉSTERES

Com base nos resultados de estudos de ésteres, relativo à atividade antifúngica, foram planejados também quatro novos nitratos-ésteres, para avaliar a influência de outros grupos funcionais e de anéis aromáticos na estrutura. A rota sintética para estes nitratos passa pela síntese de haletos como intermediários, como mostra o Esquema 19.

Esquema 19 - Rota sintética para obtenção dos Nitratos-ésteres NE1, NE2, NE3 e NE4 (28 a-d)



Capítulo 5

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são apresentados os resultados de síntese para a obtenção dos compostos desejados, as caracterizações estruturais, os resultados dos estudos biológicos dos compostos sintetizados e dos estudos teóricos *in silico* dos parâmetros ADME farmacocinéticos e toxicológicos.

5.1 SÍNTESE DOS COMPOSTOS DERIVADOS DA GLICERINA

5.1.1 Destilação do óleo fúsel para obtenção de álcoois superiores

A primeira etapa do trabalho correspondeu à obtenção dos álcoois superiores (cadeia molecular maior que o etanol) a partir da destilação do óleo fúsel proveniente da usina Japungu, em Santa Rita, fornecido pelo SINDALCOOL. Através da destilação fracionada do óleo fúsel iniciando-se a 70°C até uma temperatura de 195°C foram recolhidas seis alíquotas com temperaturas de ebulição distintas para cada composto. Os resultados estão mostrados na Tabela 1.

Tabela 1 - Alíquotas obtidas durante a destilação fracionada do óleo fúsel.

Faixa de temperatura (°C)	Substância identificada	Rendimento (%)*
70 - 79	Álcool metílico + etílico	10,7
97	Álcool n-propílico	0,6
108	Álcool isobutílico	14,3
129	Álcool isopentílico	41,4
138	Álcool n-pentílico	9,2
158	Álcool n-hexílico	6,7
195	Álcool n-octílico	4,8

*Restou no balão certa quantidade de resíduo não destilado. Os percentuais foram medidos em relação ao volume inicial de óleo fúsel.

Observamos na Tabela 1 que os álcoois majoritários presentes na amostra destilada do óleo fúsel são o álcool isobutílico e isoamílico, com rendimentos da ordem de 15 e 40%, respectivamente. Estes resultados estão em conformidade com os trabalhos de WEBB et al. (1952), KÜÇÜK e CEYLAN (1998), PÉREZ et al. (2001), GARCIA (2008), FATIMA BI et al. (2008), entre outros, e o óleo fúsel utilizado foi classificado como “óleo pesado”, por apresentar elevado percentual de álcoois superiores (SOUZA, 2015).

5.1.2 Purificação da Glicerina

Foi proposta uma sequência de processos para purificação da glicerina bruta (Esquema 20), oriunda de reações de obtenção de biodiesel. A glicerina passou por etapas de pré-tratamento que consistem na correção do pH e separação dos ácidos graxos e sais residuais, como mostra a figura 6, e para purificação a glicerina foi bidestilada a vácuo. Esta etapa requer particular atenção, de modo que a temperatura não ultrapasse 200 °C, para evitar polimerização e/ou decomposição da glicerina (FERREIRA, 2009).

Esquema 20 - Etapas de purificação da glicerina

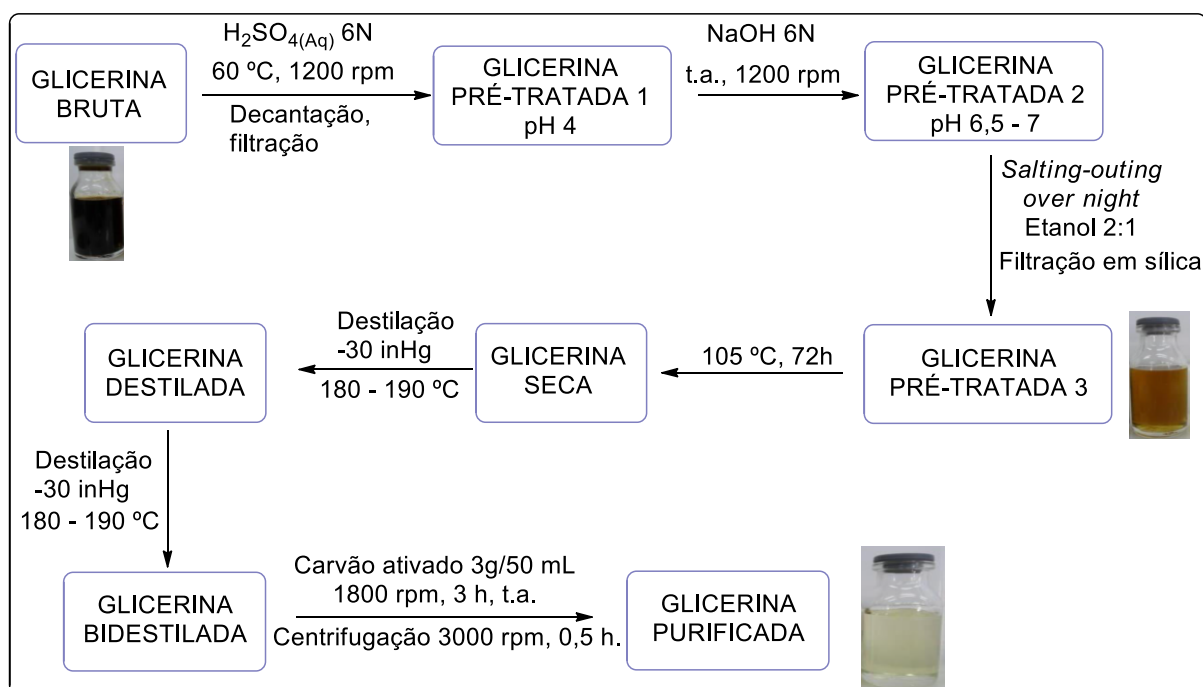
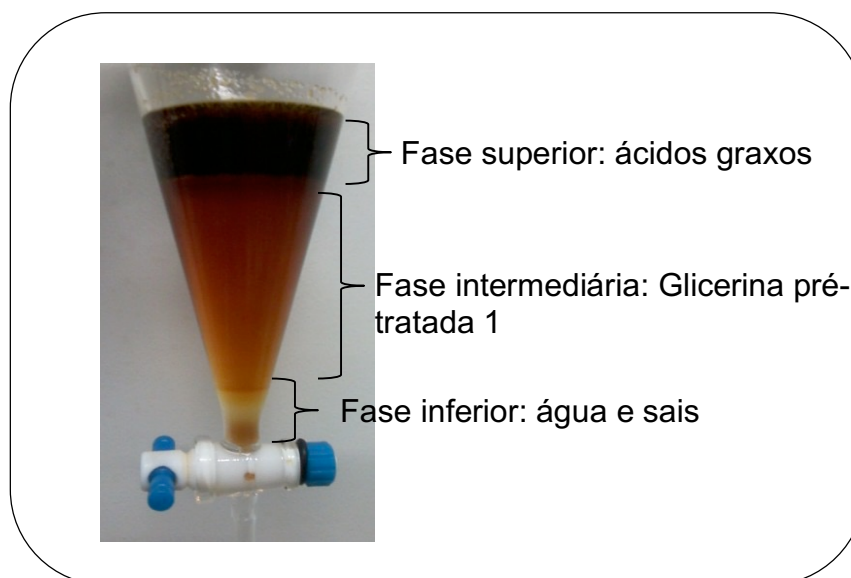


Figura 6 - Pré-tratamento da glicerina



Foi determinado o teor de glicerol usando como base no método normatizado ABNT NBR 15344, que consiste numa técnica de iodometria utilizando periodato de sódio. O teste de teor de glicerol foi realizado para a glicerina pré-tratada 3 e para a glicerina purificada, sendo obtidos os valores médios de 69,1% e 98%, respectivamente. A glicerina purificada não atingiu o grau de pureza U.S.P (*United States Pharmacopeia*), mas foi utilizada para a síntese do intermediário DCP descrito a seguir, sem comprometer a pureza do reagente final.

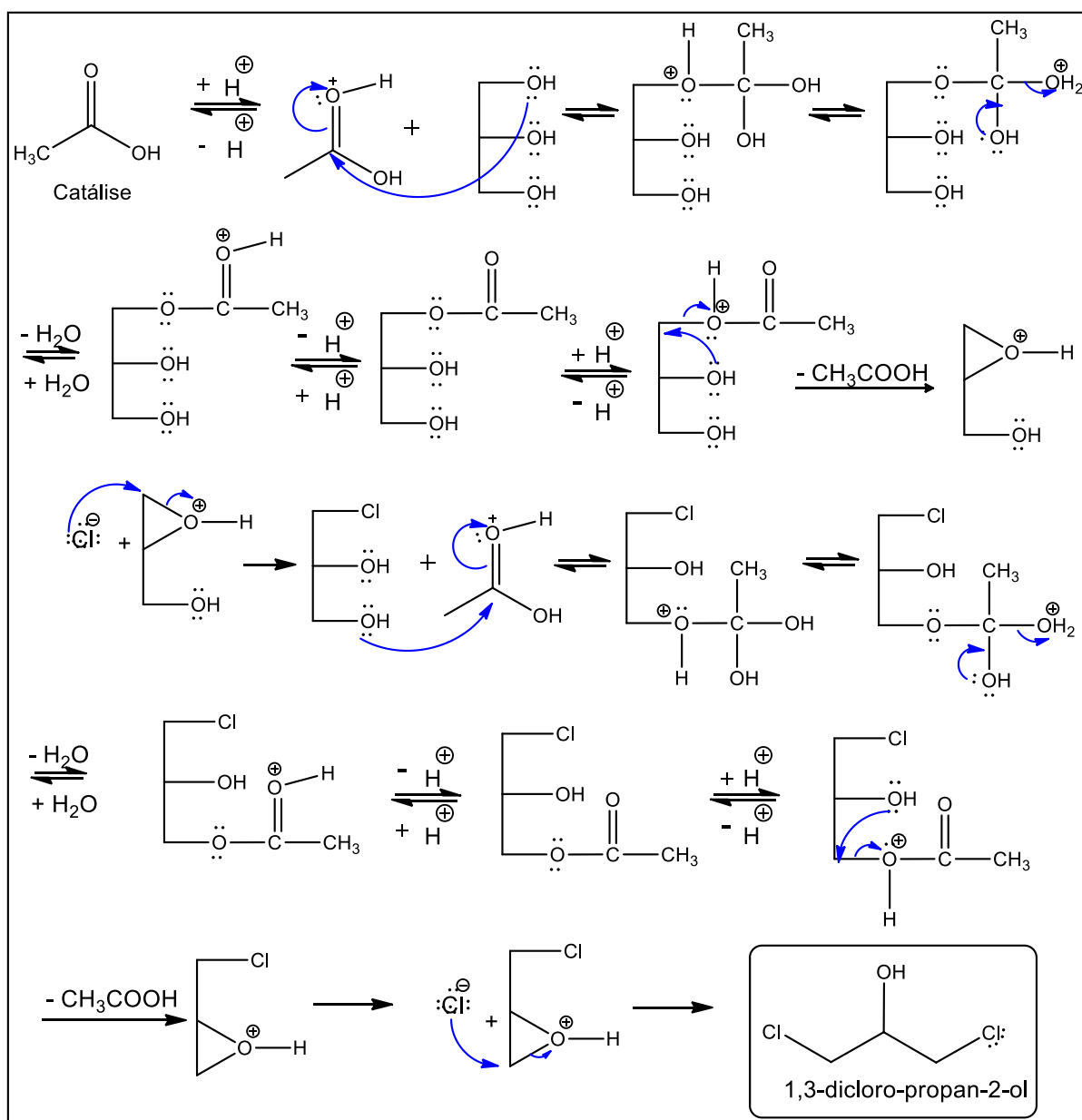
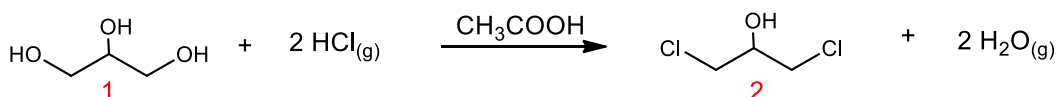
A glicerina purificada foi obtida com um rendimento de 73,5%, considerado excelente, uma vez que há uma perda de 1-3% em cada etapa do processo, como informado por Lopes et al. (2014).

5.1.3 Síntese do intermediário 1,3-dicloro-propan-2-ol (DCP) (2).

O intermediário (**DCP**) necessário para a síntese dos compostos 1,3-diéteres-propan-2-ol foi sintetizado com 70% de rendimento e foi devidamente caracterizado. A reação envolvendo a glicerina com adição de $\text{HCl}_{(g)}$ catalisada com

ácido acético é bastante seletiva. O Esquema 21 mostra o mecanismo proposto por Tesser e colaboradores (2007) para a obtenção do 1,3-dicloro-propan-2-ol a partir da glicerina catalisado por ácido acético, cuja metodologia foi adotada neste trabalho.

Esquema 21- Mecanismo proposto para a síntese do 1,3-dicloro-propan-2-ol (2)

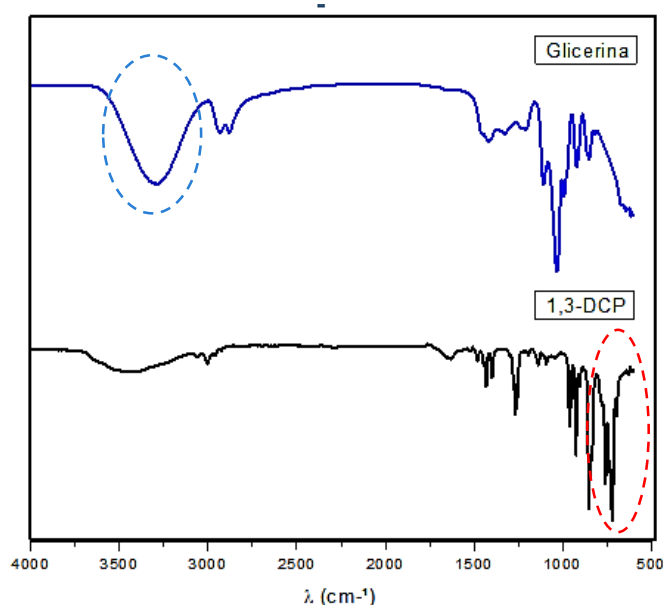


Fonte: Adaptado de Tesser (2007)

Diferentes ácidos carboxílicos podem ser utilizados como catalisadores para hidrocloreção do glicerol, esse método é muito seletivo para a obtenção do 1,3-dicloro-propan-2-ol, sendo de extrema relevância, visto que o 1,3-dicloropropanol é muito mais reativo que o 1,2-dicloropropanol (SANTACESARIA, 2014).

A Figura 7 apresenta a comparação dos espectros na região do infravermelho do glicerol (glicerina) e do 1,3-dicloro-propan-2-ol, na qual pode-se observar a diminuição da banda característica de O-H correspondente à função álcool e diminuição da banda correspondente às vibrações de estiramento axial da ligação C-O de álcoois na região de $1260\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$, devido a substituição de dois grupos hidroxila por grupos Cl, além das bandas de absorção correspondentes a deformações angulares e axiais de C-Cl na região de 800 cm^{-1} .

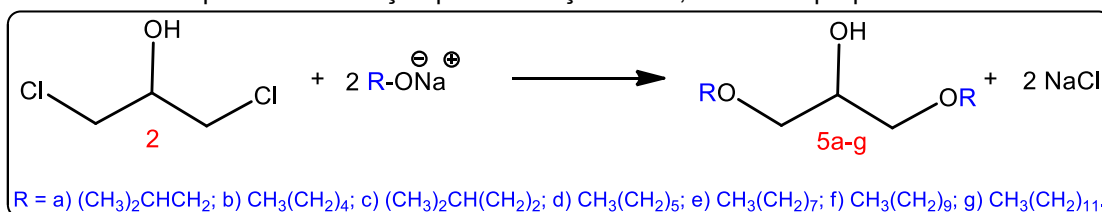
Figura 7 - Comparação dos espectros na região IV da glicerina e do 1,3 dicloropropan-2-ol.



5.1.4 Síntese dos intermediários 1,3-diéter-propan-2-ol.

Os diéteres da glicerina (5a-g) são substâncias já descritas na literatura, entretanto podem constituir um novo material para a obtenção de moléculas inéditas com propriedades úteis (WALKER *et al*, 2002). Os intermediários 1,3-diéter-propan-2-ol (5a-g) necessários à síntese dos nitratos foram obtidos utilizando a rota sintética apresentada no Esquema 22.

Esquema 22 - Reação para obtenção dos 1,3-diéteres-propan-2-ol.

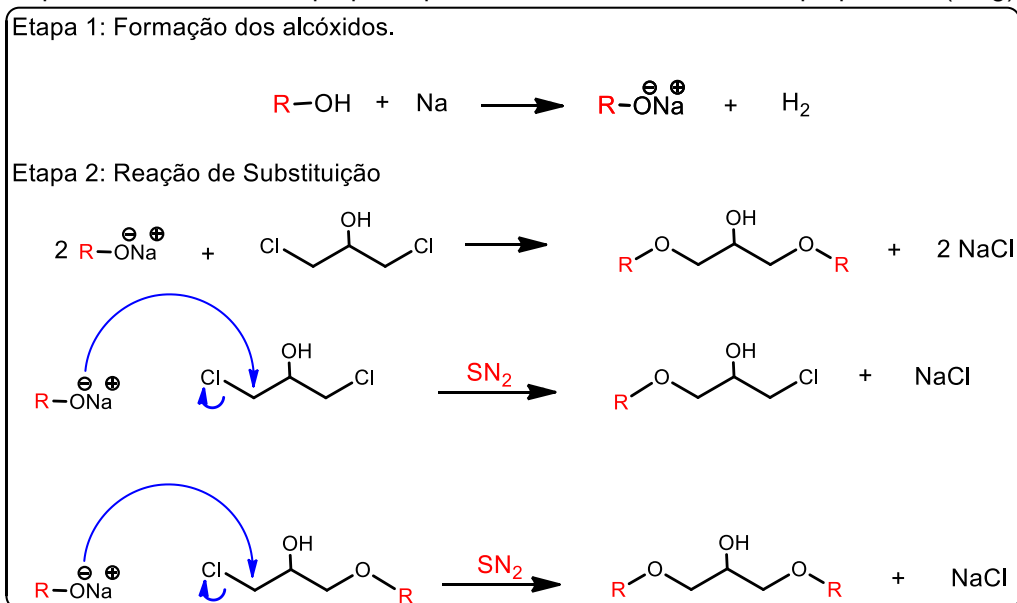


Entrada	Intermediário obtido	Sigla	Rendimento (%)
a	 1,3-diisobutoxypropan-2-ol	DIBP	65,5
b	 1,3-bis(pentiloxi)propan-2-ol	DPP	83,2
c	 1,3-bis(isopentiloxi)propan-2-ol	DIPP	88,4
d	 1,3-bis(hexiloxi)propan-2-ol	DHP	77,6
e	 1,3-bis(octiloxi)propan-2-ol	DOP	61,3
f	 1,3-bis(deciloxi)propan-2-ol	DDP	60,8
g	 1,3-bis(dodeciloxi)propan-2-ol	DDDP	54,7

O mecanismo de reação para formação deste intermediário envolve uma substituição nucleofílica bimolecular ($\text{S}_{\text{N}}2$) dos alcóxidos (4a-g) com o DCP sintetizado. Nesta reação o par de elétrons livre do oxigênio do alcóxido ataca o

carbono ao qual está ligado átomo de cloro, em função de sua maior carga parcial positiva. Desta forma ocorre à formação de uma nova ligação covalente (-O-C) juntamente com a saída do íon cloreto. O Esquema 23 mostra o mecanismo proposto para a obtenção dos 1,3-diéter-propan-2-ol (5a-g).

Esquema 23- Mecanismo proposto para a síntese dos 1,3-diéteres-propan-2-ol (5a-g).



Durante a adição da DCP (2) por gotejamento à solução do alcóxido ocorre uma turvação no meio reacional com a formação do precipitado de cloreto de sódio. Os diéteres derivados da glicerina (5a-g) foram obtidos com bons rendimentos e estruturalmente caracterizados por IV e RMN.

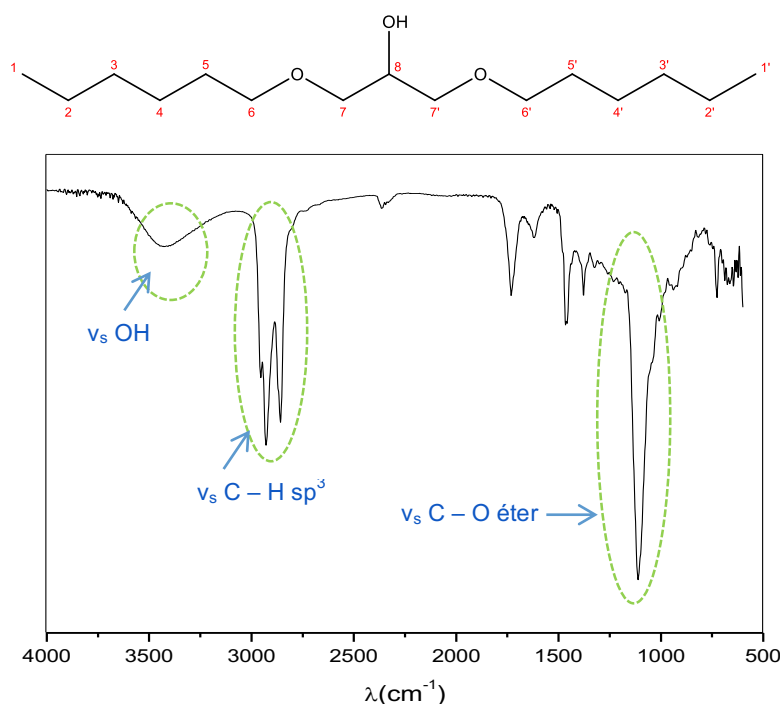
5.1.2.1 Caracterização estrutural dos intermediários 1,3-diéter-propan-2-ol

Os produtos intermediários (5a-g) foram caracterizados por métodos espectroscópicos de IV, RMN ^1H e RMN ^{13}C posteriormente utilizados para síntese dos nitratos finais.

Os espectros de infravermelho dos compostos intermediários são bastante similares, uma vez que as estruturas são moléculas simétricas com equivalentes grupos funcionais. A formação dos compostos intermediários é

comprovada pela diminuição da intensidade da banda de absorção da função hidroxila em volta de 3450 cm^{-1} , e desaparecimento dos sinais correspondentes as deformações angulares e axiais de C-Cl na região de 800 cm^{-1} (apresentado na figura 7), devido a substituição dos dois grupos Cl. A porção alquílica da molécula está caracterizada pelas bandas de vibração de deformação axial C-H próximas de 2950 , 2930 e 2930 cm^{-1} , a função éter é caracterizada pelas bandas de deformação axial da ligação C – O de éteres alifáticos em torno de 1115 cm^{-1} e deformações angulares de CH_2 em (1483 e 1474 cm^{-1}), como apresentado no espectro 1.

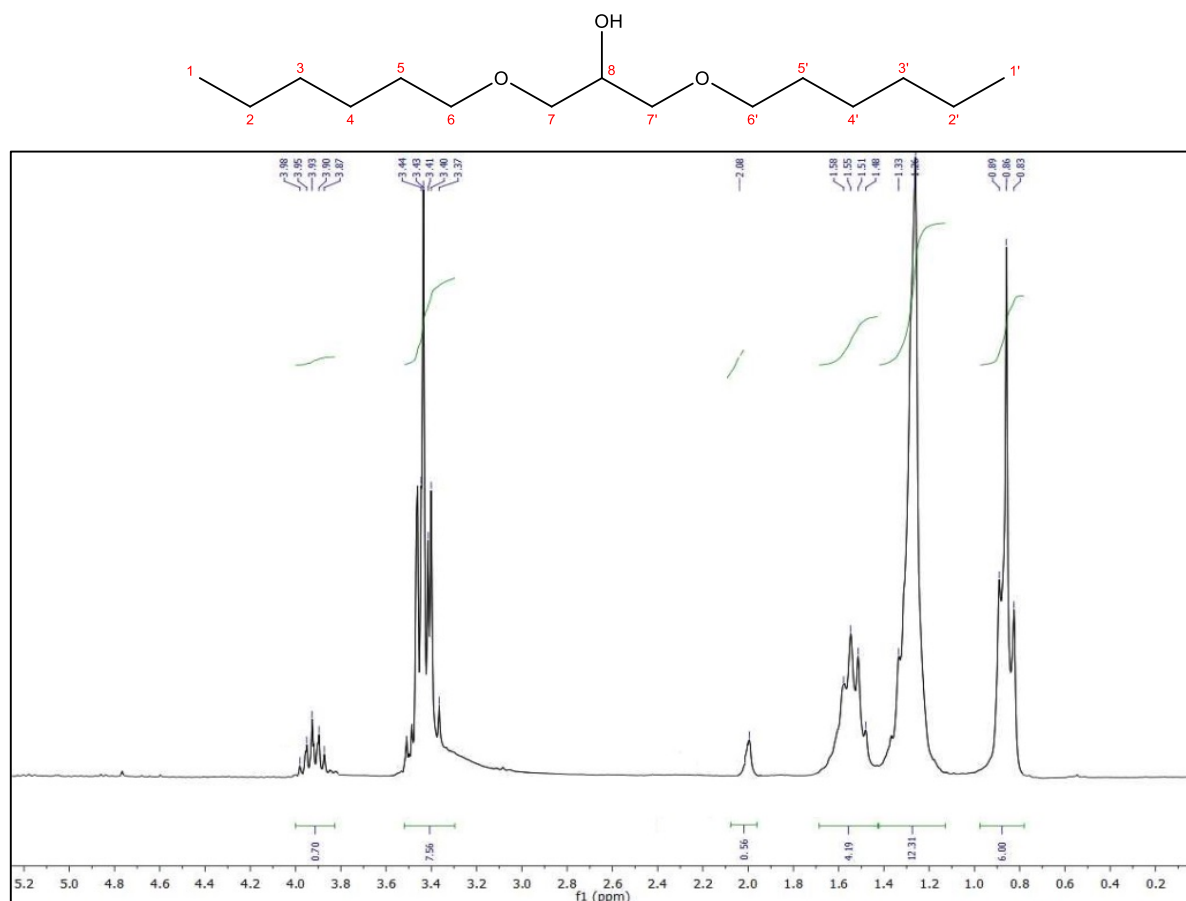
Espectro 1- Espectro de IV (ATR) do 1,3-dihexóxiopropan-2-ol (DHP) (5d).



No espectro de RMN ^1H (200MHz em CDCl_3) do composto DHP (5d), é possível observar em 3,98 – 3,87 ppm a presença de um quinteto referente ao hidrogênio metínico ligado ao carbono C-8, que acopla com os hidrogênios dos carbonos C-7 e C-7', na região de 3,44 - 3,37 ppm observa-se um multipeto referente a sobreposição de um dubleto referente aos 4 hidrogênios ligados aos carbonos C-7 e C-7' e um tripleto menos deslocado referente aos 4 hidrogênios ligados aos carbonos C-6 e C-6', o deslocamento químico em 2,08 ppm refere-se ao hidrogênio do grupo hidroxila (-OH), na região de 1,58 – 1,48 ppm observa-se um multipeto referente a 4 hidrogênios metilênicos ligados aos carbonos C-5 e C-5' acoplado com os hidrogênios metilênicos vizinhos, que por sua vez, aparecem

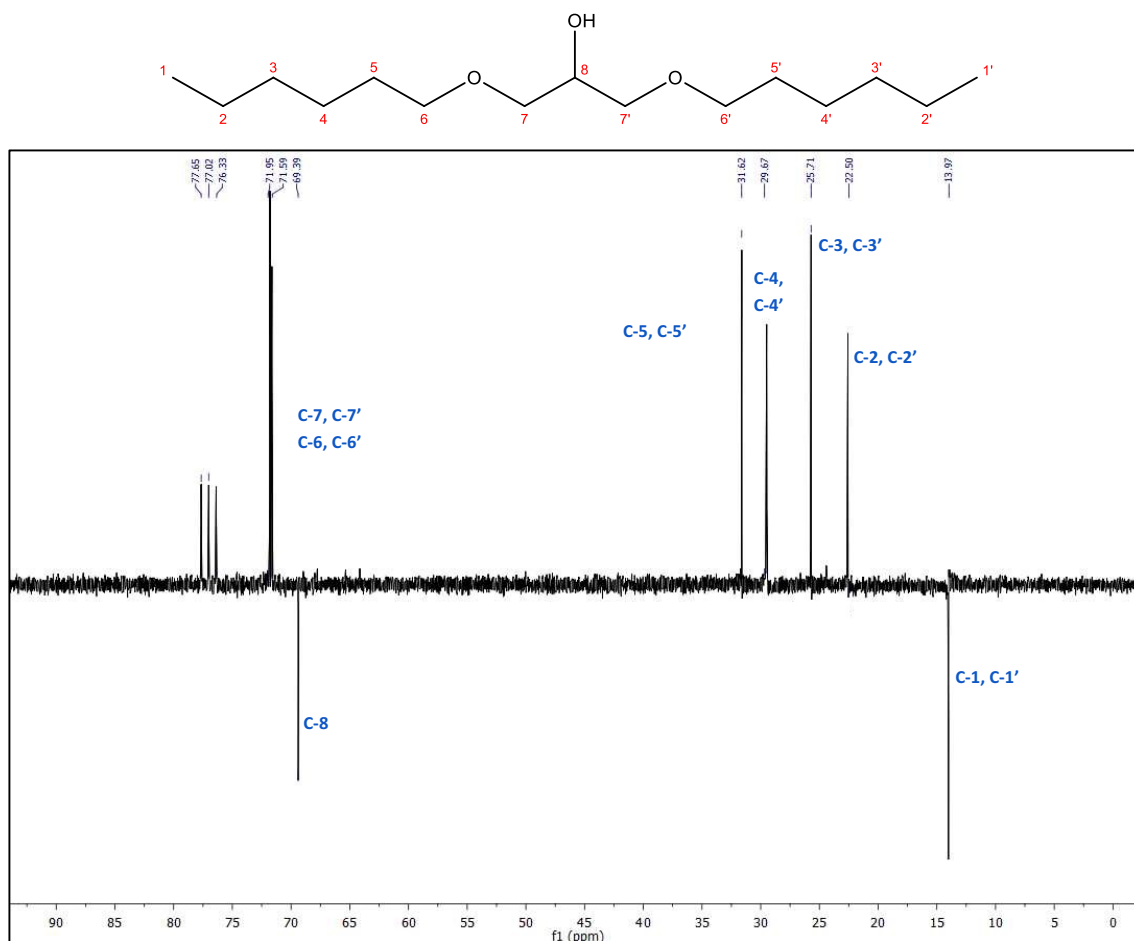
sobrepostos em torno de 1,26 ppm (hidrogênios ligados a C-4 e C-4', C-3 e C-3' e C-2 e C-2') e com os hidrogênios da metila, em 0,89 – 0,83 ppm a presença de um tripleto referente a seis hidrogênios metílicos ligados aos carbonos C-1 e C-1' acoplando com os hidrogênios metilênicos (Espectro 2).

Espectro 2- Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) do 1,3-di-hexóxiopropan-2-ol (DHP) (5d) .



No Espectro de RMN ^{13}C apt (50 MHz, CDCl_3), observa-se o sinal relativo aos carbonos C-7;C-7' e C-6;C-6' praticamente sobrepostos em 71,95 e 71,59 ppm, o sinal referente ao carbono metínico C-8 que está ligado ao grupo hidroxila aparece em 69,39 ppm, os sinais para os carbonos metilênicos de 31,62 a 22,50 ppm e em 13,97 ppm visualiza-se o sinal referente aos carbonos metílicos C-1 e C-1' (Espectro 3).

Espectro 3- Espectro de RMN ^{13}C (APT, 50 MHz, CDCl_3) do 1,3-di-hexóxi-propan-2-ol (DHP) (5d) .



Os intermediários deste grupo já são conhecidos na literatura, por este motivo não serão apresentados nesta seção detalhes da caracterização dos demais compostos.

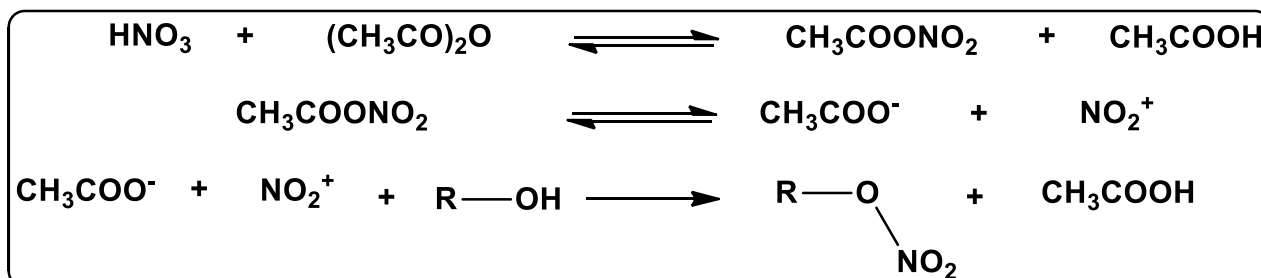
5.1.3 Síntese dos Nitratos Derivados do 1,3-diéter-propan-2-ol.

Foram sintetizados sete novos nitratos da série de derivados da glicerina (6a-g) (Figura 7), desenvolvidas para este estudo e estão sendo patenteadas.

A hidroxila presente nos diéteres é nitrada, por reações consecutivas, como mostra o esquema 24 (cujo mecanismo desta reação está apresentado no esquema 25), com excelentes rendimentos. O uso do anidrido acético como catalisador favorece a reação pois, ao contrário do ácido acético ou outro ácido, não leva a reações concorrentes; pelo efeito do íon comum gerado no meio, desloca o

equilíbrio da reação no sentido dos produtos nitratos desejados; e atua simultaneamente como solvente.

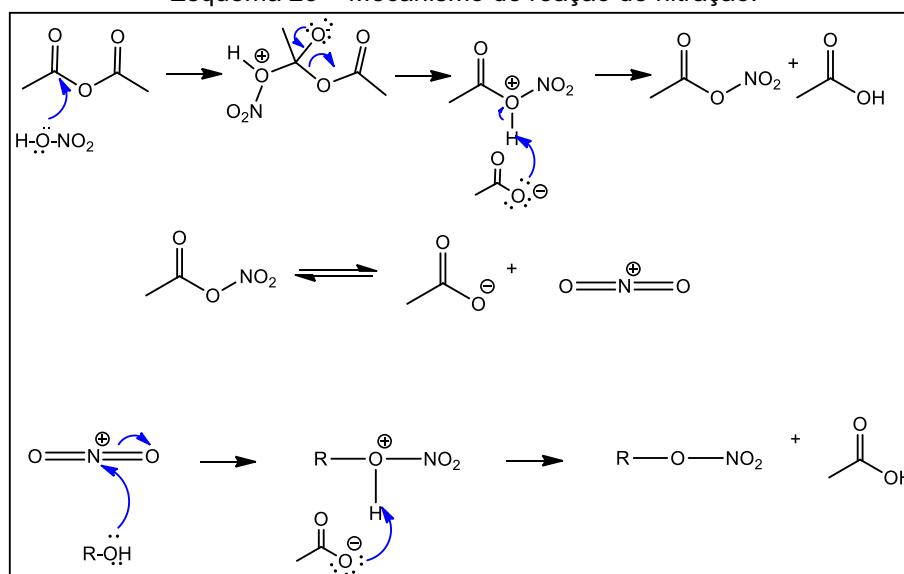
Esquema 24- Reações envolvidas na nitração dos diéteres e dos álcoois



Fonte: Adaptado de Santos (2009).

Para obtenção dos nitratos utilizou-se um excesso de 20% no número de moles da solução nitrante ($\text{Ac}_2\text{O}/\text{HNO}_3$) em relação à quantidade estequiométrica do composto a ser nitrato, no intuito de obter maiores rendimentos, além do cuidado com o tempo de adição da solução nitrante, que não deve exceder os 20 minutos, por fatores cinéticos, conforme estudo de otimização da reação de nitração realizado por nosso grupo de pesquisa (ATHAYDE-FILHO et al., 2006).

Esquema 25 – Mecanismo de reação de nitração.



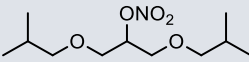
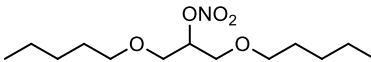
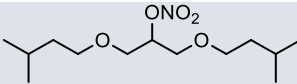
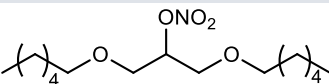
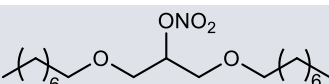
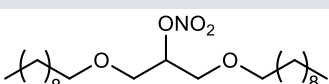
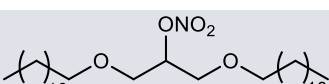
Fonte: Adaptado de Fisher (1990); Olah et al (1989).

Além do controle do tempo, foi necessário realizar um controle diferenciado de temperatura para as moléculas com maior cadeia carbônica. A

reação de nitração é extremamente exotérmica, podendo chegar a ser explosiva, e os nitratos apresentam baixa estabilidade térmica, sofrendo decomposição em temperaturas na faixa de 60°C. Para as cadeias com até 15 carbonos, o procedimento teve início com banho de gelo a -18°C, porém, as demais moléculas da série tornam-se um material pastoso a esta temperatura, requerendo um volume muito grande de solvente e uma inversão de ordem de adição dos reagentes, resultando em menores rendimentos ou não ocorrência da reação. Para tais moléculas, a temperatura inicial foi controlada em 0°C, e mantida durante o procedimento em temperaturas de até 10°C.

As estruturas e rendimentos dos nitratos derivados da glicerina preparados neste estudo estão expressos na Tabela 2.

Tabela 2 – Estruturas e rendimentos dos nitratos derivados da glicerina (6a-g).

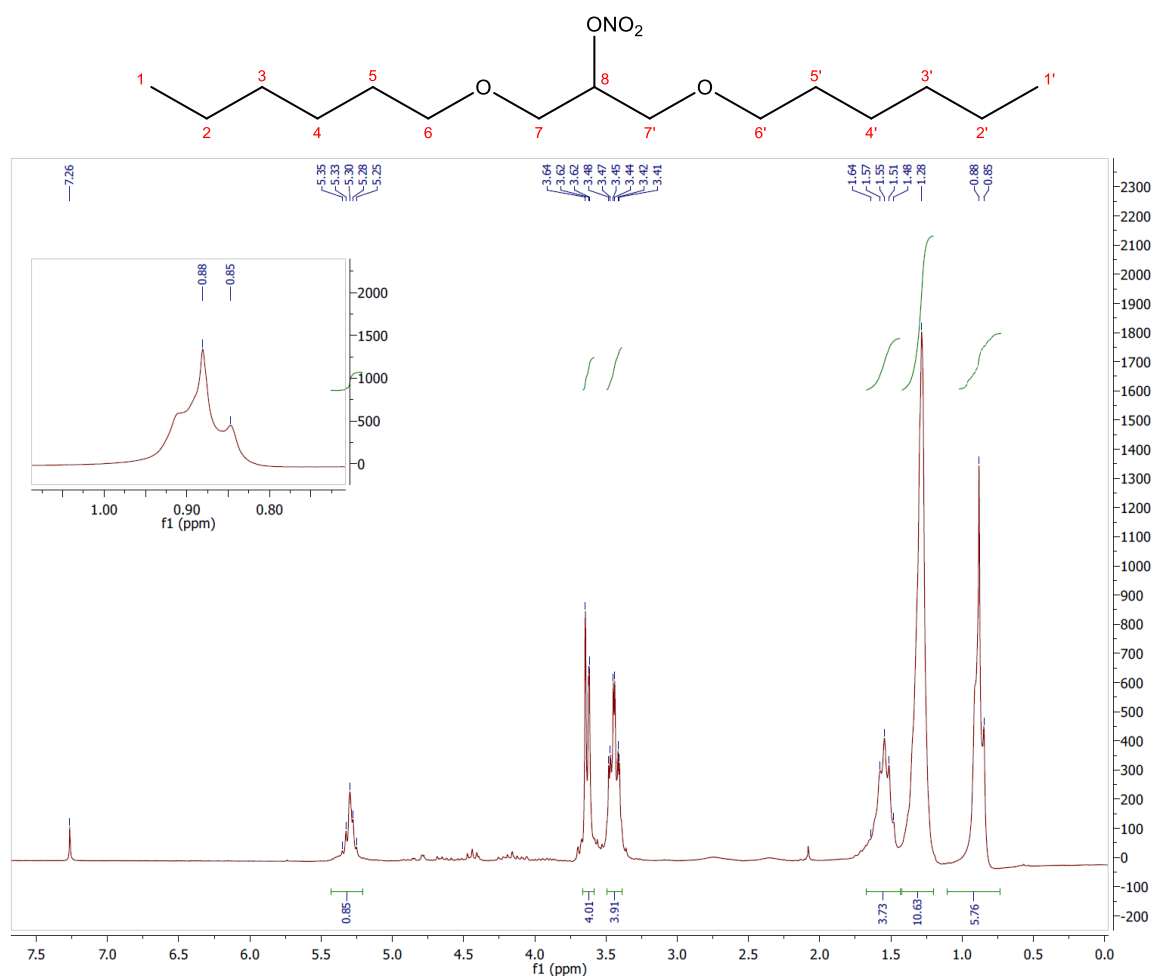
Entrada	Intermediário obtido	Sigla	Rendimento (%)
a	 Nitrato de 1,3-diisobutoxiopropan-2-ila	NDIBP	85,7
b	 Nitrato de 1,3-bis(pentiloxi)propan-2-ila	NDPP	96,2
c	 Nitrato de 1,3-bis(isopentiloxi)propan-2-ila	NDIPP	83,4
d	 Nitrato de 1,3-bis(hexiloxi)propan-2-ila	NDHP	87,3
e	 Nitrato de 1,3-bis(octiloxi)propan-2-ila	NDOP	73,1
f	 Nitrato de 1,3-bis(deciloxi)propan-2-ila	NDDP	70,6
g	 Nitrato de 1,3-bis(dodeciloxi)propan-2-ila	NDDDP	67,7

5.1.3.1 Caracterização dos nitratos derivados da glicerina

Os nitratos da série de derivados da glicerina obtidos são todos líquidos oleosos, com viscosidade aumentando com o aumento da cadeia, de coloração amarelada e odor similar ao de ésteres.

A estrutura dos compostos finais foram confirmadas pelas análises espectroscópicas de IV, RMN- ^1H (Espectro 4) e RMN- ^{13}C . Tais técnicas foram suficientes para confirmar a formação e pureza dos nitratos obtidos.

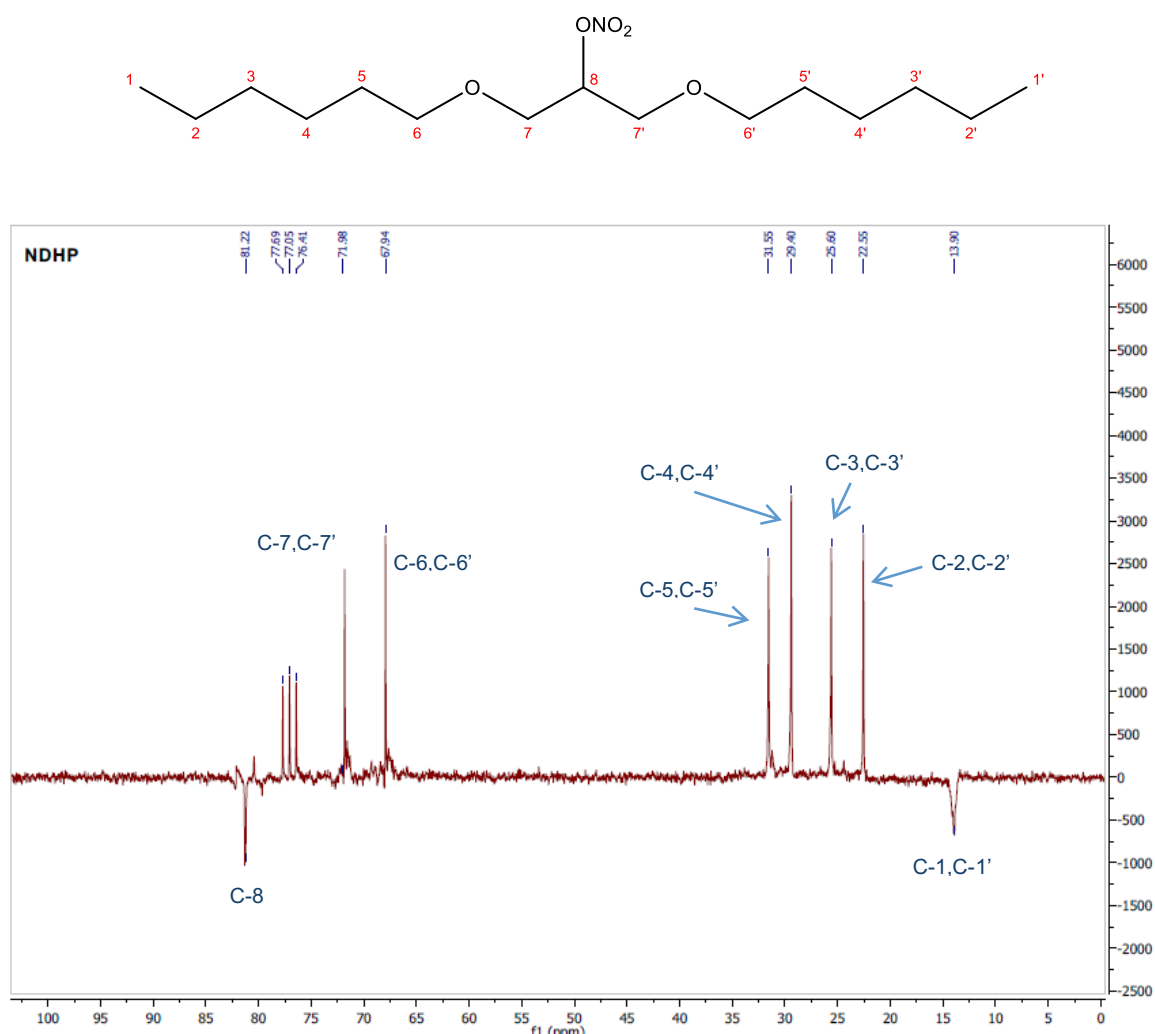
Espectro 4 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) do Nitrato de 1,3-bis(hexiloxi)propan-2-ila (NDHP) (6d).



No espectro de RMN- ^1H do NDHP (Espectro 4) foram observados os sinais característicos deste composto, tais como um quinteto correspondente ao

hidrogênio metínico (H-8) desblindado por efeito do grupo nitrato ($-\text{ONO}_2$) em 5,2 a 5,3 ppm e a expansão mostra o tripleto correspondente aos 6 átomos de hidrogênio metílicos (H-1,1'). No espectro de RMN ^{13}C (Espectro 5) observou-se apenas oito sinais de carbono confirmando a simetria da molécula, confirmada também pelo sinal de carbono metínico (C-8) em 81,2 ppm e de carbono metílico (C-1,1') em 13,9 ppm.

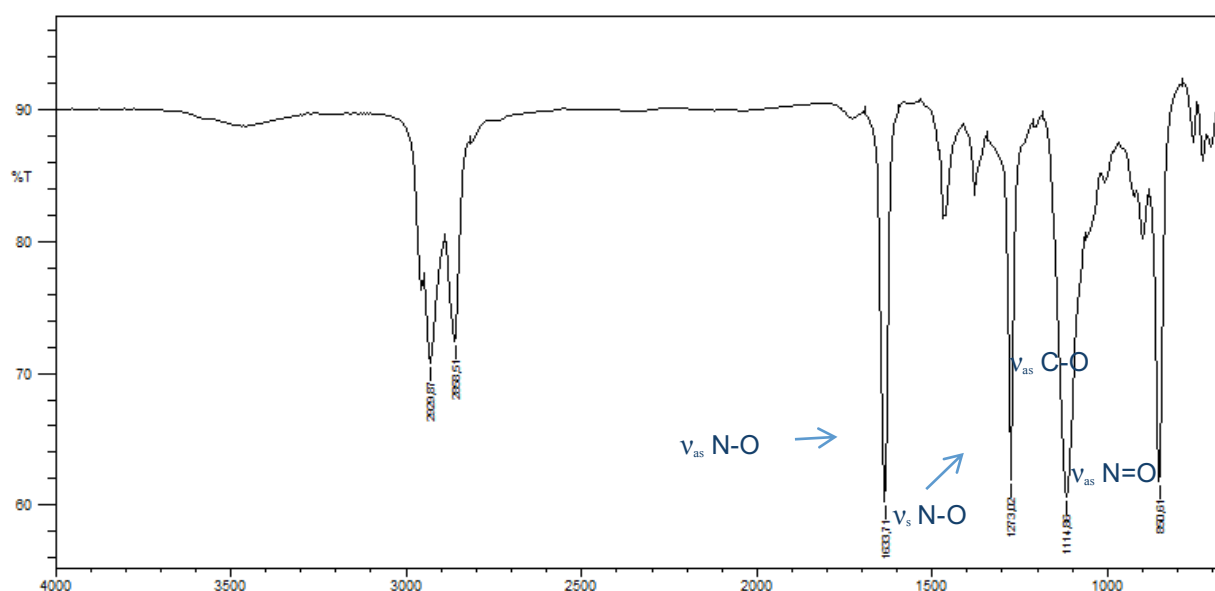
Espectro 5 - Espectro de RMN ^{13}C (APT, 50 MHz, CDCl_3) do Nitrato de 1,3-bis(hexiloxi)propan-2-ila (NDHP) (6d).



Conforme apresentado por Bruns et al (2010), os nitratos orgânicos apresentam bandas de absorção na região do infravermelho em frequências bastante específicas, apresentando três picos de alta intensidade em torno de 1630, 1280 e 860 cm^{-1} , assim como mostra o espectro de infravermelho do NDHP (6d)

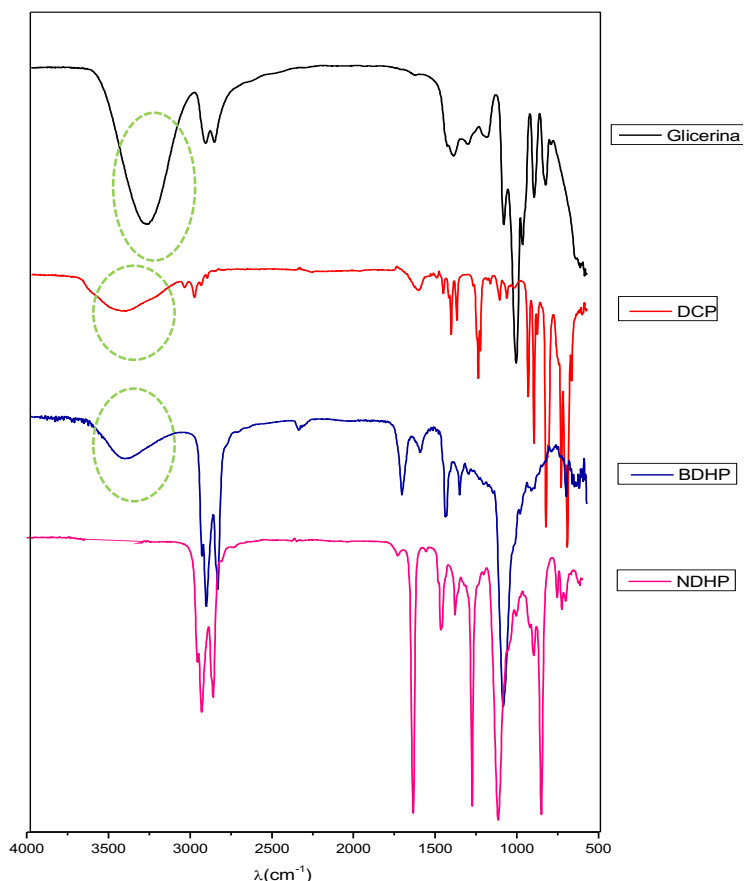
(Espectro 6) que confirma a presença do grupo nitrato na molécula proposta, pelos picos característicos, em 1631cm^{-1} , correspondente a deformação axial assimétrica da ligação N–O, em 1269cm^{-1} , seu desdobramento simétrico e em 852cm^{-1} o pico de deformação axial do sistema π da ligação N=O. Para esta série, destaca-se também a banda forte e alargada correspondente a éter alifático em torno de 1100 cm^{-1} , cujo sinal para o NDHP aparece em 1121 cm^{-1} .

Espectro 6 - Espectro de absorção na região do infravermelho (ATR/FTIR) do Nitrato de 1,3-bis(hexiloxi)propan-2-ila (NDHP) (6d).



A melhor ferramenta para o acompanhamento da série de reações dos compostos derivados da glicerina foi a comparação entre os espectros de infravermelho, pois os sinais para os compostos desta série são bem típicos nesta técnica, como é possível observar na Figura 9. Com ênfase para a diminuição e consequente desaparecimento da banda de estiramento da ligação O – H da glicerina para o nitrato, assim como o aparecimento dos sinais típicos de deformação da ligação C – Cl na conversão da glicerina em DCP e o desaparecimento dos mesmo sinais na sequência, com a formação do diéter. Por sua vez, a conversão do diéter em nitrato fica evidente com o aparecimento dos sinais específicos de deformação das ligações do grupo nitrato.

Figura 8 - Comparação dos espectros da região do IV da glicerina e dos derivados DCP (2), DHP (5d) e NDHP (6d).

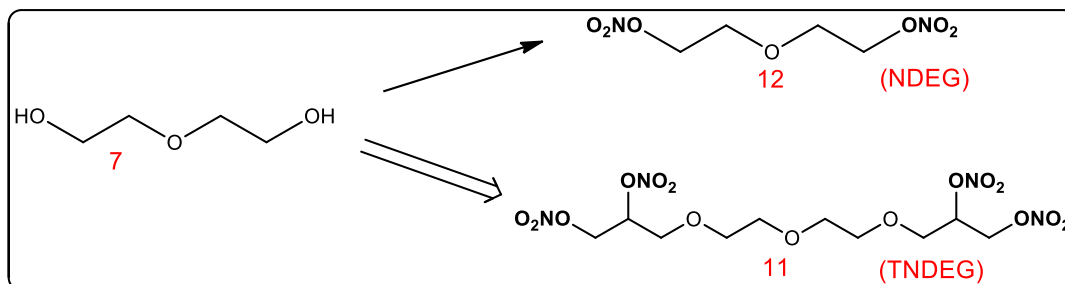


5.2 SÍNTESE DOS NITRATOS DERIVADOS DO ETILENOGLICOL

Foram preparados dois nitratos derivados do etilenoglicol (Esquema 26), um dinitrato (12) e um tetranitrato (11) inédito, planejados principalmente para testes comparativos com a série dos derivados da glicerina (6a-g).

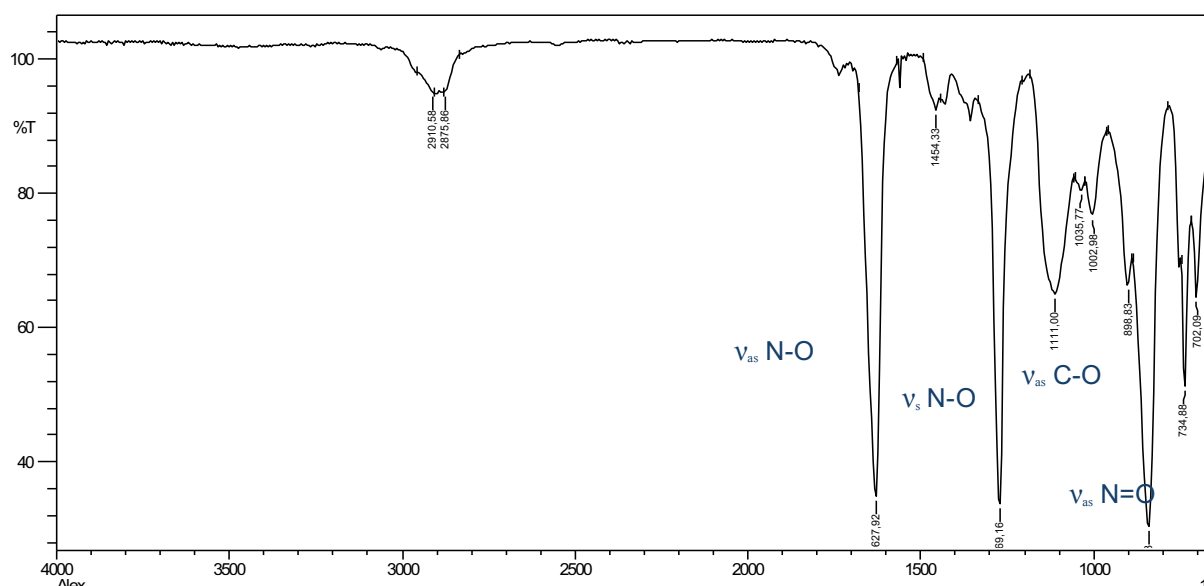
O NDEG (12) é uma molécula já comercializada, tendo sido sintetizada para base de testes. O TNDEG (11) foi obtido com rendimento relativamente baixo, provavelmente em função da etapa de reação de epoxidação. O Espectro 7 apresenta a análise em IV para o TNDEG (11), com a ausência dos sinais correspondentes a epóxido e hidroxilas de álcool do composto intermediário.

Esquema 26 - Nitratos derivados do dietilenoglicol (11 e 12)



Entrada	Intermediário obtido	Sigla	Rendimento (%)
12	Dinitrato de oxibis(etano-1,2-diila)	NDEG	94
11	Tetranitrato de ((oxibis(etano-1,2-diil))bis(oxi))-bis(propano-1,2,3-triila)	TNDEG	47

Espectro 7 - Espectro de IV (ATR) do TNDEG.



5.3 SÍNTESE DOS COMPOSTOS DERIVADOS DO FURFURAL

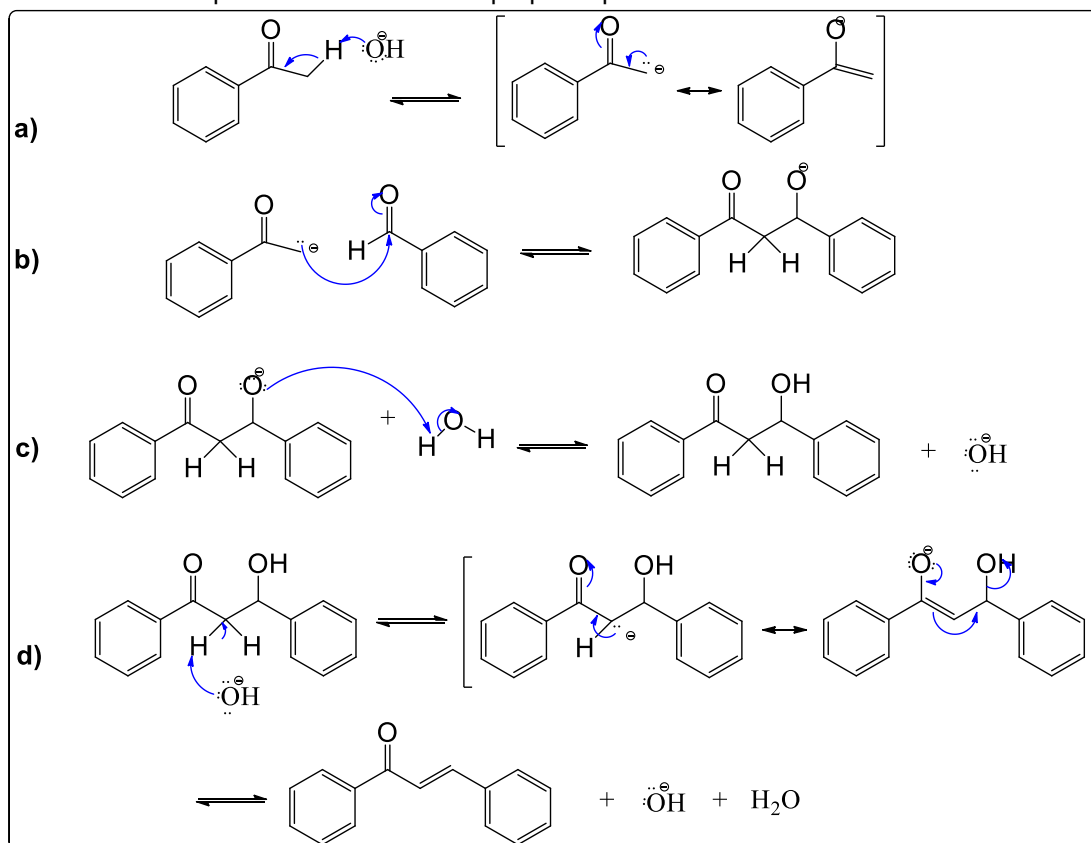
A etapa inicial da síntese dos compostos derivados do furfural é a produção de chalconas, que foi realizada com bastante eficiência. Essas chalconas merecem destaque pelas inúmeras possibilidades de usos como fontes potenciais para a transformação em outros novos compostos funcionalizados como os nitratos que são moléculas consagradas para tratar distúrbios coronarianos.

Diversos métodos de síntese de chalconas são descritos na literatura, porém a metodologia mais utilizada é a condensação de Claisen-Schmidt. Neste método realiza-se a condensação de um aldeído aromático com uma cetona apropriada em um solvente polar como metanol, com o uso de uma base como catalisador.

O mecanismo proposto para esta condensação (Esquema 27) pode ser descrito nas seguintes etapas:

- a) inicialmente o catalisador básico remove um hidrogênio alfa ácido da cetona, formando assim um carbânion, que pode ser estabilizado por ressonância;
- b) a reação continua através de um ataque nucleofílico do carbânion ao carbono da carbonila do aldeído, formando assim um intermediário tetraédrico (íon alcóxido);
- c) ao ser protonado por um hidrogênio da água o íon alcóxido é convertido no produto de condensação e o meio básico é regenerado;
- d) o produto de condensação sofre desidratação básica e para que isso ocorra, um hidrogênio ácido é abstraído da posição alfa, resultando assim no íon enolato, que por equilíbrio elimina o grupo -OH, formando assim a chalcona.

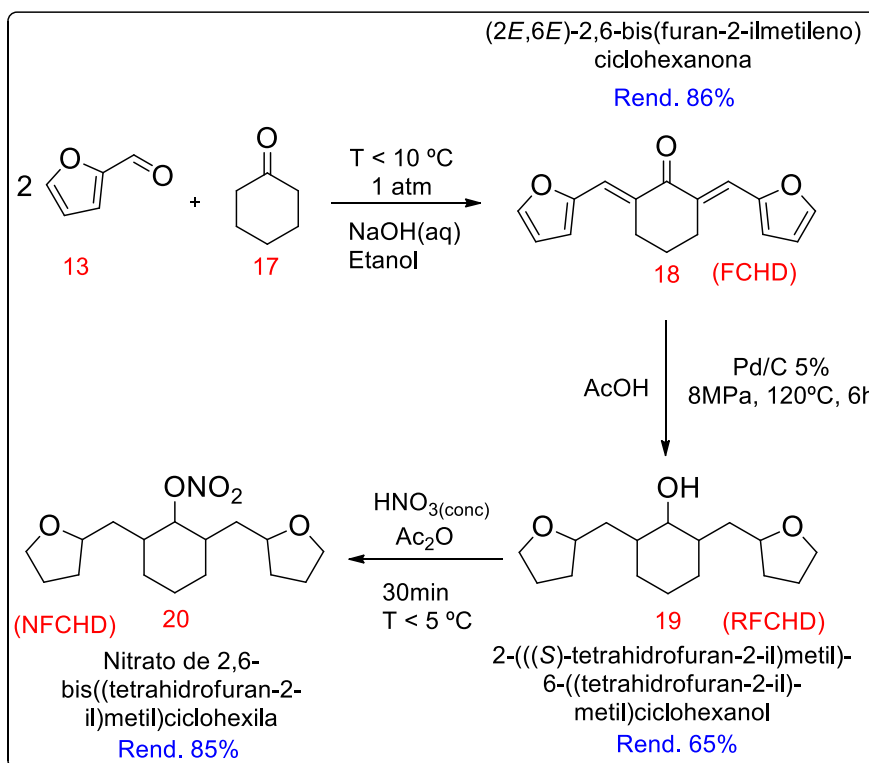
Esquema 27 - Mecanismo proposto para a síntese de Chalconas



Fonte: Adaptado de Voltolini (2014)

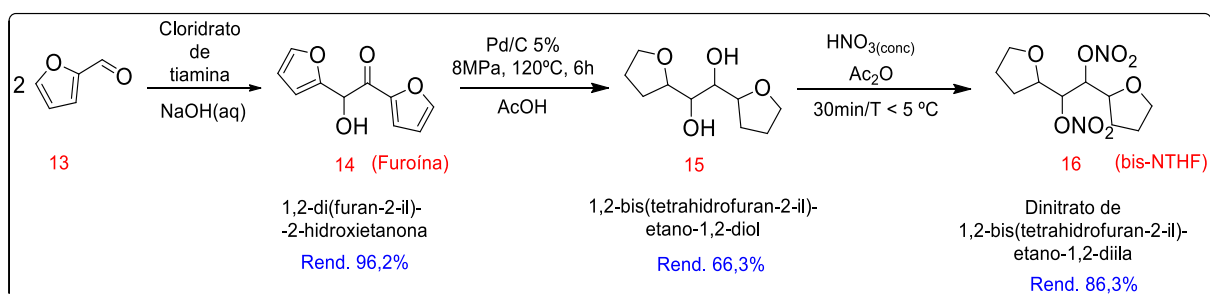
Para fins desta pesquisa foi utilizada apenas a chalcona obtida a partir da condensação entre furfural e a ciclohexanona (18), dentre outras sintetizadas pelo grupo de pesquisa. Para utilizar a molécula como intermediário para obtenção de nitrato fez-se necessário submeter o composto a reação de hidrogenação, para redução da carbonila à hidroxila, grupo alvo da reação de nitração e redução também do anel furano à tetrahydrofurano (19), evitando assim que haja reações concorrentes e formação de nitrofurano, que não é de interesse neste estudo. O nitrato (20) foi obtido com bom rendimento, por nitração direta com ácido nítrico. Esta sequência de reações está apresentada no esquema 28.

Esquema 28 - Síntese do nitrato NFCHD (20) derivado do furfural



Partindo do furfural, preparou-se também a furoína (nome atribuído em analogia a benzoína), cuja estrutura apresenta similaridade com as chalconas, não sendo classificada como tal, por não tratar-se de uma cetona α - β -insaturada. A furoína foi obtida pelo mesmo método clássico utilizado para síntese da benzoína, em reação catalisada pelo cloridrato de tiamina, como mostra o esquema 29. Do mesmo modo que a FCHD (18), a furoína (14) também foi hydrogenada, para obter a molécula a ser nitrada (15). O nitrato requerido (16) foi obtido com excelente rendimento, a partir da reação do composto saturado (15) com ácido nítrico.

Esquema 29 - Síntese do bis-NTHF (16)



5.3.1 Caracterização dos Compostos Derivados do Furfural

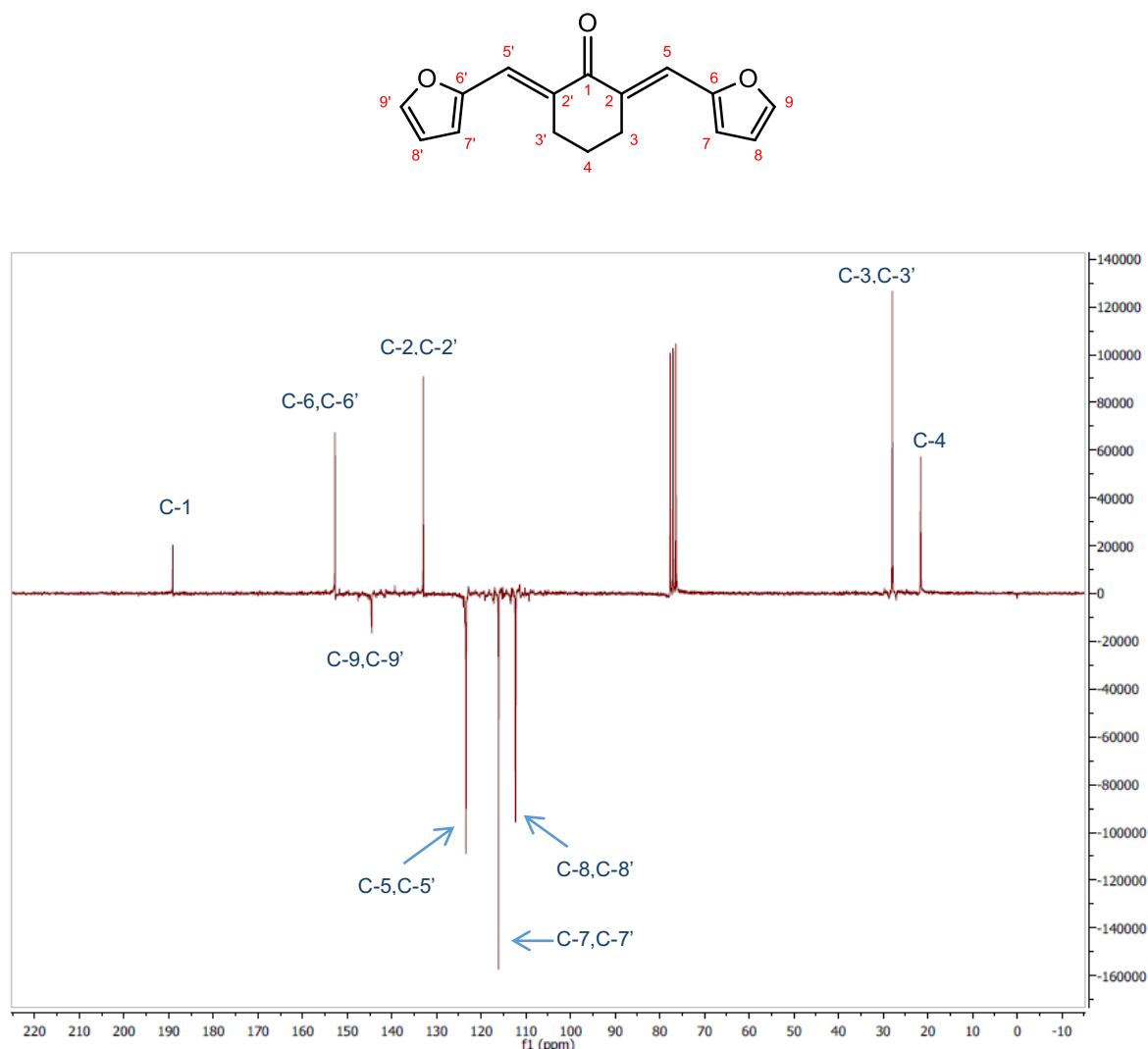
Os resultados indicaram que as técnicas de Infravermelho e RMN de ^1H e ^{13}C (APT) utilizadas para elucidação dos compostos confirmaram com relativa precisão o esqueleto básico desses compostos, uma vez que apresentam sinais bem característicos.

De uma maneira geral, os espectros de RMN de ^1H da chalcona e da furoína apresentaram os seguintes sinais característicos: multipletos de anel furfurílico e alcenos na faixa de 6,5-7,6 ppm para a chalcona e sinais de 5,75-8,0 ppm relacionado ao anel furfurílico da furoína.

Nos espectros de RMN ^{13}C da chalcona (Espectro 8) e da furoína os sinais típicos observados foram: um sinal atribuído em 189 ppm relacionado ao grupo $\text{C}=\text{O}$ de sistema conjugado das chalconas e em 185 ppm na furoína, vários sinais referentes aos carbonos furfurílicos e alcenos das chalconas na faixa de 152-112 ppm e 143-108 do anel furfurílico da furoína.

Os espectros de infravermelho dessas moléculas mostraram claramente deformações fora do plano de $\text{C}-\text{H}$ de aromáticos ($900-690\text{ cm}^{-1}$), deformações $\text{C}=\text{C}$ de anel aromático geralmente aos pares entre $1600-1475\text{ cm}^{-1}$, ainda caracterizando a presença de aromaticidade nessas moléculas, presença de deformações de $\text{C}-\text{H}$ de aromáticos e alceno à esquerda de 3000 cm^{-1} . Na chalcona foram observados estiramentos $\text{C}=\text{O}$ entre 1675 a 1654 cm^{-1} , devido ao sistema das cetonas α,β -insaturada. Já para a furoína, foi observado um estiramento de $\text{C}=\text{O}$ em 1687 cm^{-1} e a presença de banda característica de hidroxila em 3394 cm^{-1} .

Espectro 8 - Espectro de RMN ^{13}C (APT, 50 MHz, CDCl_3) do FCHD (18)



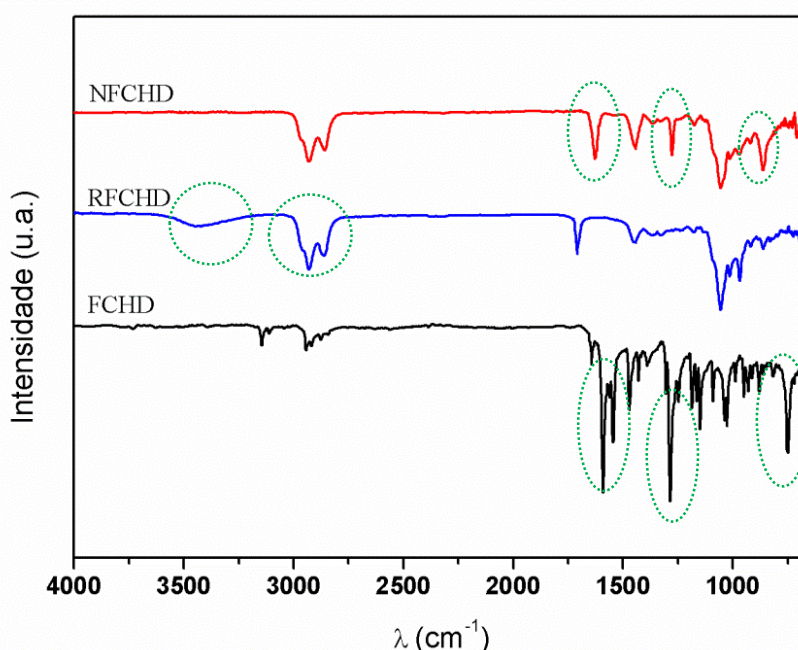
As moléculas obtidas nestes procedimentos foram comprovadas facilmente por espectroscopia em Infravermelho.

Os nitratos obtidos também apresentam espectros de infravermelho típicos para este grupo de compostos. Os compostos nitrados (16) e (20) apresentam bandas de absorções na região de infravermelho que são características para a elucidação de suas estruturas e a confirmação de sua formação. As principais bandas de absorção observadas nestes compostos são: estiramento de NO_2 , estiramento C-H de alcanos, estiramento C-O. Como os grupos funcionais são equivalentes nos compostos, foi possível identificar um padrão de absorções para os compostos. Os compostos apresentam bandas de estiramentos de NO_2 na região de 1630 e 1279 cm^{-1} . Já na região próximo de 2950 a 2900 cm^{-1}

caracteriza o estiramento de C-H sp^3 . As bandas de estiramento de C-O da função éter aparece por volta 1120-1115 cm^{-1} .

A sequência de reações para estes compostos foi claramente evidenciada pela comparação entre os espectros de infravermelho obtidos, como mostram as Figuras 9 e 10.

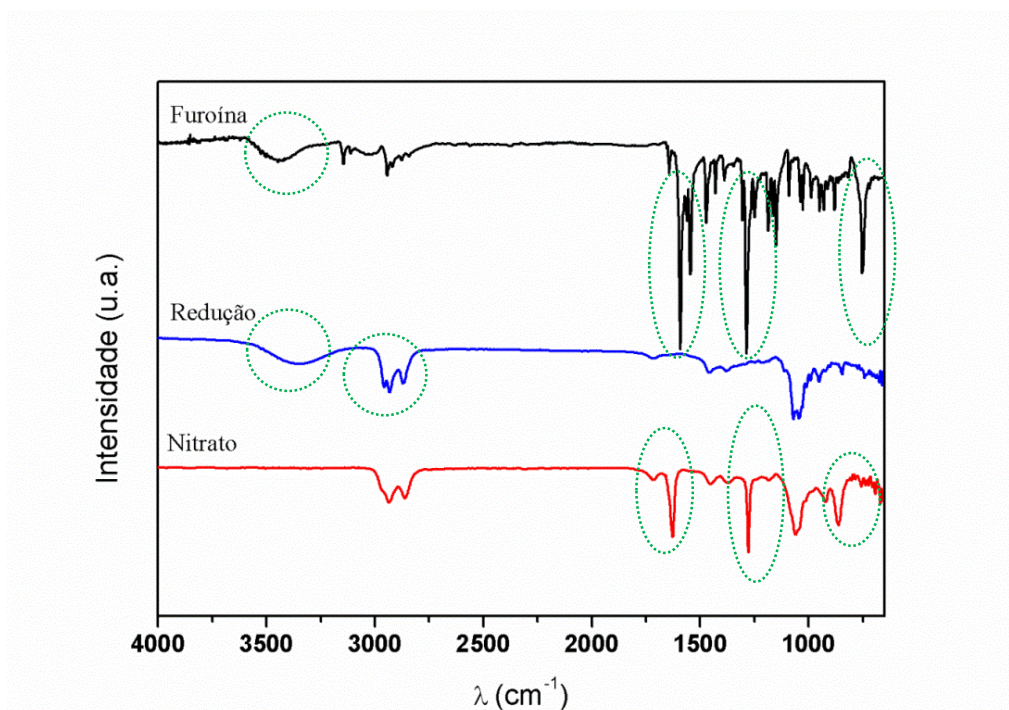
Figura 9 - Comparação dos espectros da região do IV da chalcona FCHD (18) e dos derivados RFCHD (19) e NFCHD (20).



Destacam-se o desaparecimento dos sinais de carbonila, estiramento C – O de éter aromático e C=C de aromático, do espectro do FCHD (18) para o RFCHD (19) e o consequente aparecimento da banda larga correspondente ao estiramento das ligações C – H sp^3 e da ligação O – H, que não mais aparece no espectro do NFCHD (20). Neste gráfico ficam evidentes os sinais característicos da função nitrato, que são as bandas de estiramento de NO₂ assimétrico na região de 1675 a 1610 cm^{-1} e simétrico entre 1300 e 1250 cm^{-1} , além do sinal de deformação axial do sistema π da ligação N=O na região próxima a 850 cm^{-1} . Comportamento análogo é observado na Figura 9, com distinção apenas no fato de a furoína (14) já apresentar

grupo hidroxila e consequentemente seu espectro exibir uma banda de estiramento O – H na região de 3400 cm^{-1} .

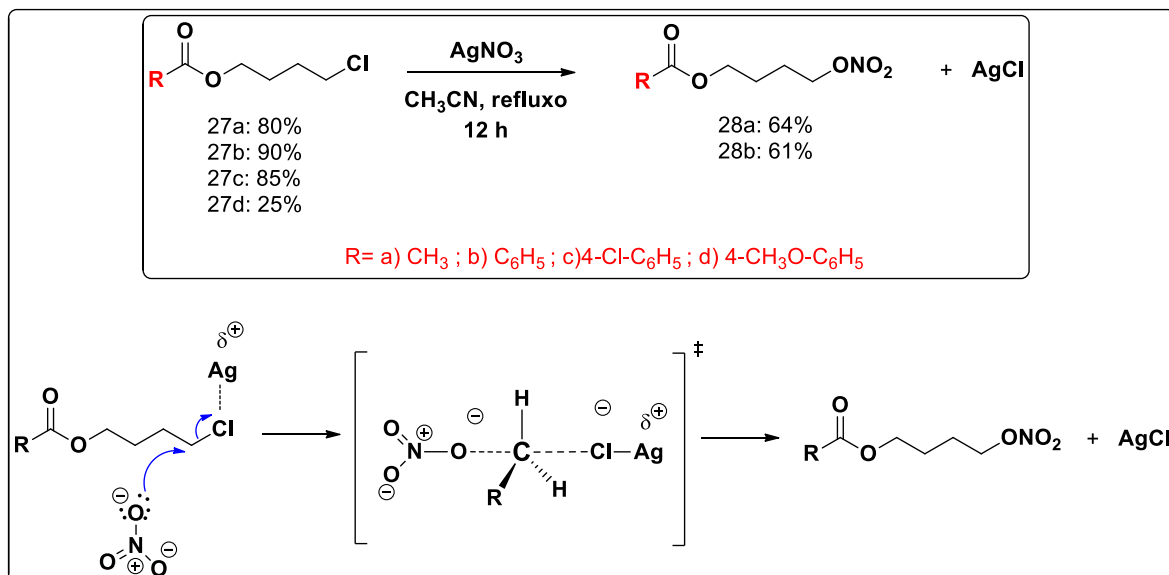
Figura 10 - Comparação dos espectros da região do IV da furoína (14), da R-furoína (15) e do bis-NTHF (16).



5.4 SÍNTESE DOS NITRATOS ÉSTERES

Foram planejados novos nitratos-ésteres com o intuito de testar os efeitos pleiotrópicos atribuídos aos múltiplos grupos funcionais bioativos presentes nas formulações. A metodologia de síntese dos nitratos foi modificada, pois a rota genérica utilizada para as demais séries, via reação com ácido nítrico, ocasionaria a hidrólise do éster, impossibilitando a formação do composto desejado. O mecanismo proposto para esta reação está representado na Esquema 30.

Esquema 30 - Proposta de mecanismo para a reação de obtenção dos nitrato-ésteres (28a-d).

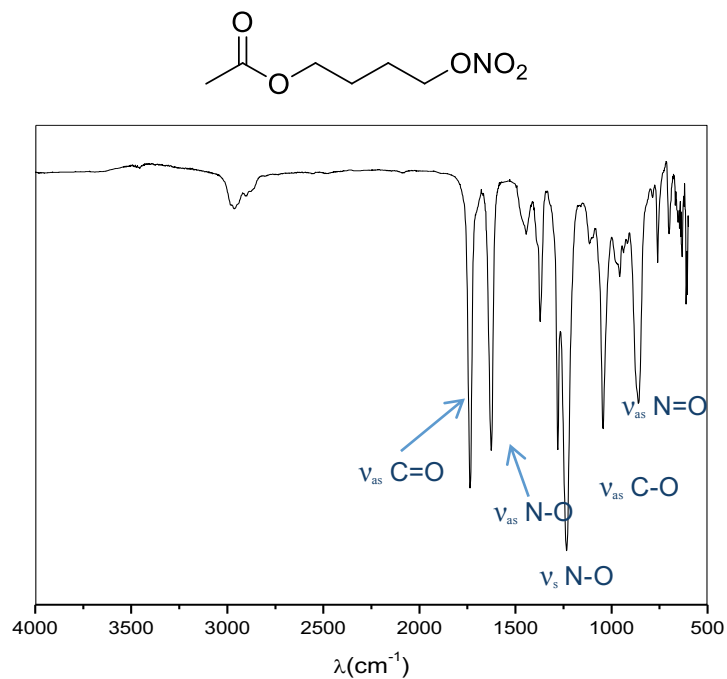


Os nitrato-ésteres (28c) e (28d) foram obtidos com baixo rendimento (inferior a 10%) e ainda não purificados, por isso não foram considerados neste resultado.

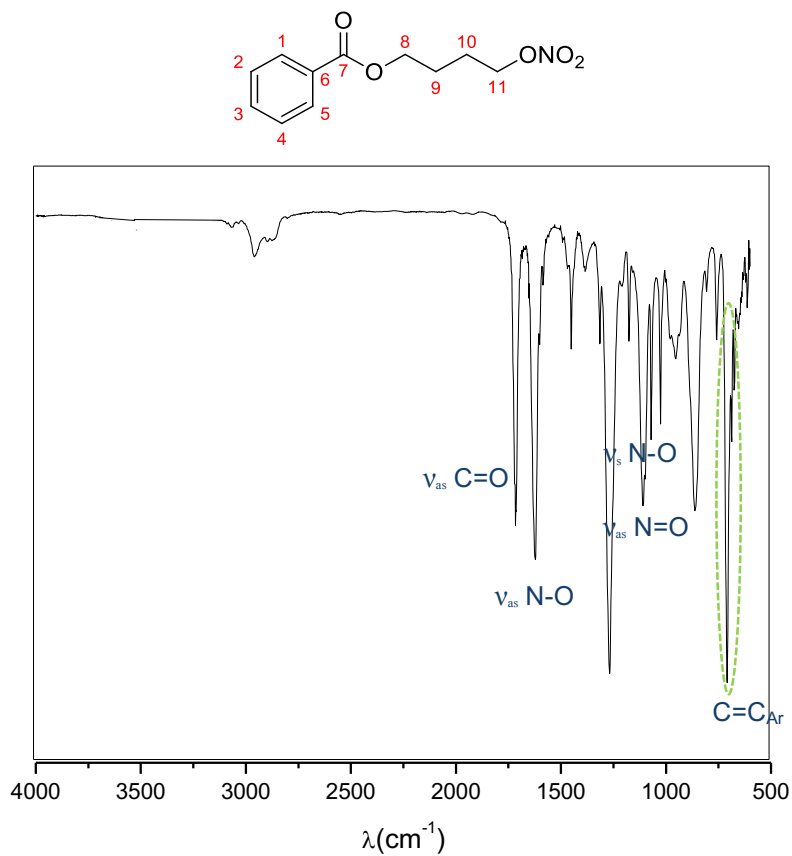
Os compostos (28a) e (28b) foram caracterizados por espectroscopia de RMN e IV. O espectro de infravermelho do NE1 (28a) (Espectro 9), apresenta os sinais característicos para esta molécula, com a banda de estiramento da ligação $\text{C}=\text{O}$ de éster em 1735 cm^{-1} e os sinais característicos da função nitrato, que são as bandas de estiramento de NO_2 assimétrico em 1625 cm^{-1} e simétrico em 1250 cm^{-1} , e o sinal de deformação axial do sistema π da ligação $\text{N}=\text{O}$ em 853 cm^{-1} .

O espectro de infravermelho do NE2 (28b) (Espectro 10) apresenta sinais similares ao do composto NE1 (28a), diferindo apenas na presença das bandas características de compostos aromáticos e a variação no deslocamento químico das bandas para regiões mais baixas do espectro, em função da conjugação.

Espectro 9 - Espectro IV (ATR) do NE1 (28a).

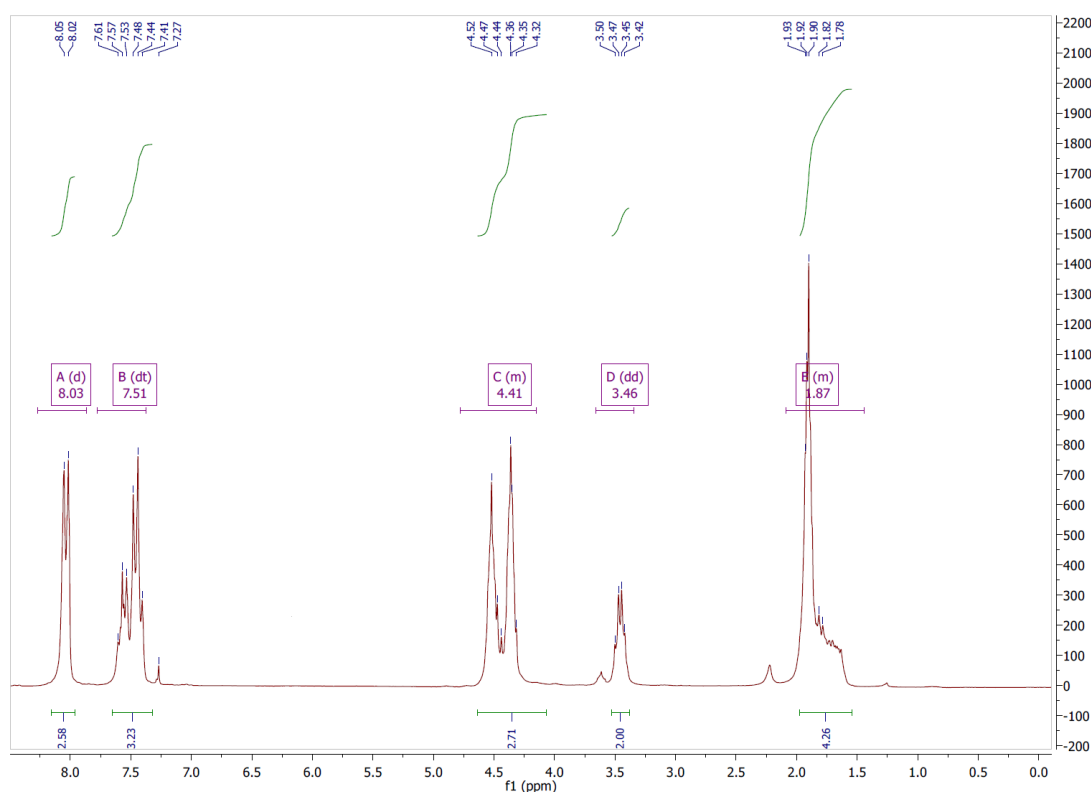


Espectro 10 - Espectro IV (ATR) do NE2 (28b).



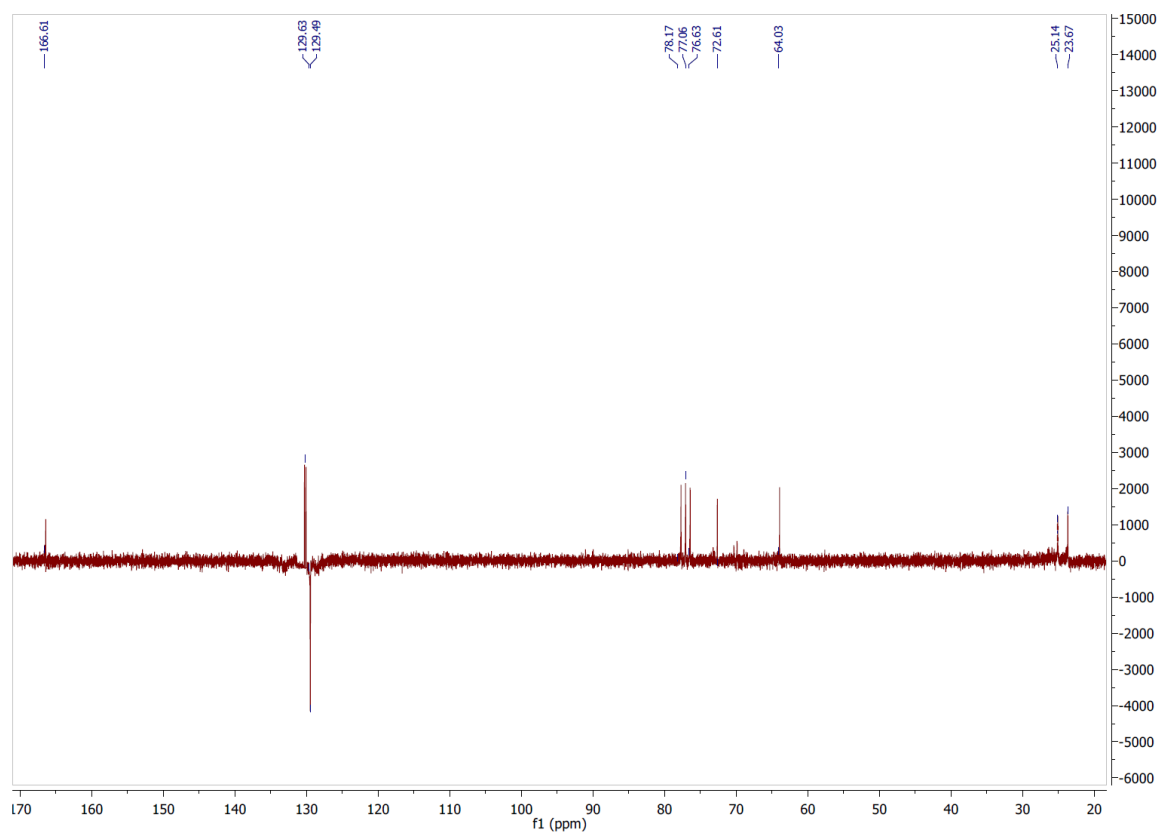
A análise estrutural por RMN atesta a estrutura proposta para o nitrato (28b), com os sinais de próton em região característica de aromáticos (superior a 6,5 ppm), como pode ser verificado no espectro 11, que apresenta dubleto com deslocamento químico em 8,03 ppm correspondente aos hidrogênios β aromáticos, o duplo triplete em 7,51 ppm atribuído a sobreposição dos sinais correspondentes aos demais hidrogênios aromáticos, além dos sinais do H-8 em 4,41 ppm e do H-11 em 3,46 desblindados em função dos grupos éster e nitrato, respectivamente.

Espectro 11- Espectro RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) do NE2 (28b).



O espectro de RMN ^{13}C (espectro 12) apresenta os sinais com deslocamentos característicos, com sinal de carbono metínico (C-7), em 166 ppm, típico de carbonila de éster e sinal em 72,61 ppm, do carbono metilênico ligado ao grupo nitrato. Observa-se também a sobreposição de sinais para os carbonos aromáticos em 129 ppm, similar ao observado para os prótons.

Espectro 12- Espectro RMN ^{13}C (APT, CDCl_3 , 50 MHz) do NE2 (28b).



5.5 ESTUDOS BIOLÓGICOS

Os estudos biológicos realizados neste trabalho foram divididos em estudos *in silico*, relacionados à farmacocinética, toxicologia e bioatividade dos compostos, e estudos *in vitro* e *in vivo* para avaliação das potencialidades como vasodilatador dos compostos.

5.5.1 Estudos *in silico*

Foi realizado um abrangente estudo *in silico* de todos os nitratos sintetizados com o intuito de averiguar se possuem propriedades que atendam aos parâmetros ADME.

Foi utilizado o *software* livre do programa **SwissADME** (<http://www.swissadme.ch>) cujo cálculo é feito *on-line*, não necessitando instalação. Este programa permite fazer uma varredura de todos os parâmetros físico-químicos que possam interferir na farmacocinética de um candidato a fármaco, apresentando inclusive gráficos de correlação de propriedades (BOILLED-Egg e Bioavailability radar) e análise com base na “regra dos 5” de Lipinski et al. (1997), nos parâmetros de Ghose et al. (1999), Egan et al. (2000), Muegge et al. (2001) e Veber et al. (2002), além da análise da possível interação entre a molécula e a p-glicoproteína e com a enzima hepática citocromo P-450 nas suas principais formas.

Foi investigado também os riscos de toxicidade (mutagênico, tumorigênico, reprodutivo e irritante), através do programa **Osiris Property Explorer**, disponível *on-line* (<http://www.organic-chemistry.org.prog.peo/>) e a medida quantitativa de *druglikeness* utilizando o programa *on-line* **Molsoft molecules in silico** (<http://www.molsoft.com/mprop/mprop.cgi>).

5.5.1.1 Estudos *in silico* de propriedades físico-químicas.

Os nitratos da série DG (6a-g) variam apenas no tamanho de sua cadeia carbônica, o que influencia bastante nos parâmetros lipofilicidade (Log $P_{o/w}$) e solubilidade (Log S), porém não altera o valor do TPSA, pois, possuem o mesmo grupo funcional em posição simétrica em todas as estruturas. A área de superfície polar molecular (PSA) é um descritor que mostra a correlação com o transporte molecular passivo através das membranas, que permite a predição da absorção intestinal humana, da permeabilidade das monocamadas de Caco-2 e da penetração da barreira hematoencefálica (SHITYAKOV et al. 2013; BYTHEWAY et al. 2008; ERTL et al. 2000)

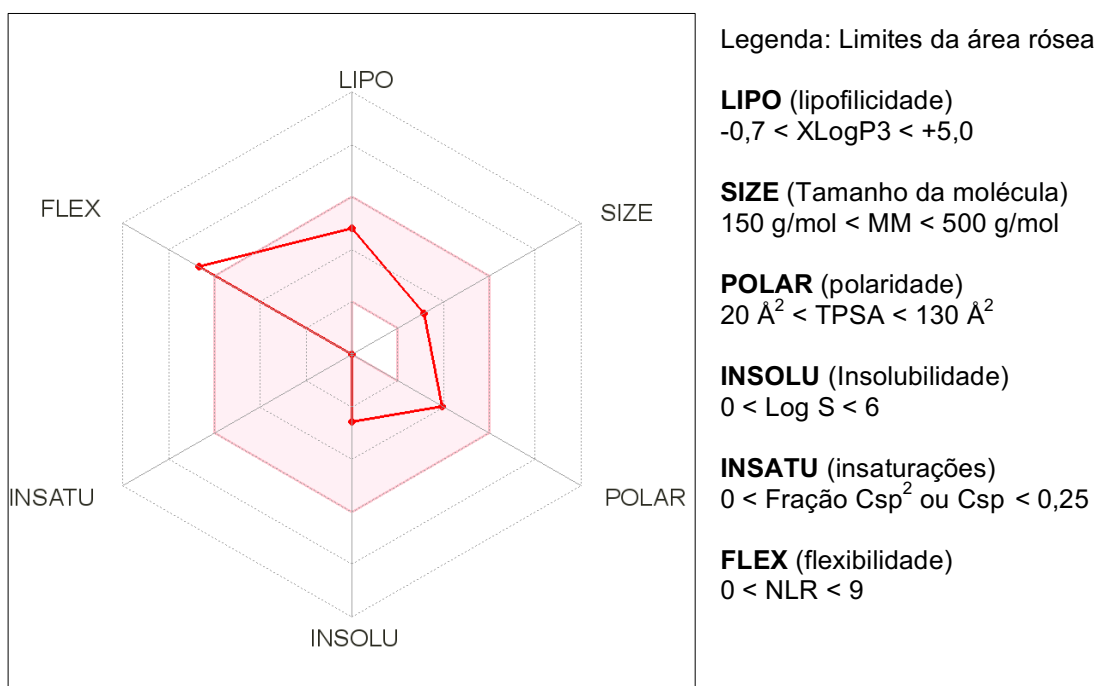
A Tabela 3 apresenta os principais parâmetros físico-químicos mensurados para a série DG (6a-g). Verificamos nesta série que a lipofilicidade dada em função de Log P aumenta com o aumento da cadeia carbônica, enquanto a solubilidade em água diminui, o que já era previsto em função do maior caráter apolar que a molécula adquire com o incremento no número de carbonos, tornando-se mais solúvel em n-octanol do que em água. Logo, prevê-se que as moléculas maiores desta série apresentem maior facilidade de absorção pelo organismo, pois,

terão mais chance de atravessar as membranas plasmáticas de modo passivo, como citado por Cheng et al. (2007), no entanto devem apresentar maior dificuldade para serem excretadas por não serem eliminadas em sua forma livre, requerendo a biotransformação conforme argumentação de Tozer e Rowland (2009).

Outro importante fator a ser considerado em termos de interação das propriedades do composto e os parâmetros ADME é a massa molar. Todas as moléculas estudadas desta série apresentam massa molar inferior a 500 g/mol, logo não devem apresentar problema quanto ao aspecto distribuição, pois são mais facilmente carregadas do que moléculas maiores. O tamanho da molécula relaciona-se diretamente com a lipofilicidade, por aumento da cadeia carbônica.

Analisando a tabela 2, percebe-se que apenas o nitrato NDIBP (6a) não apresenta nenhuma violação em termos de *druglikeness*, comparando com todos os padrões considerados. Isto indica que esta molécula apresenta grandes chances de ser um fármaco eficiente, do ponto de vista farmacocinético. Podemos analisar esta molécula também utilizando o gráfico 1 de correlação *Bioavailability Radar* plotado no programa SwissADME

Gráfico 1 - Radar de biodisponibilidade do NDIBP (6a) – apresenta a correlação entre tamanho da molécula, flexibilidade, solubilidade, lipofilicidade, saturação e polaridade.



Nota: A área rósea representa as condições excelentes para biodisponibilidade por administração do fármaco via oral (DAINA et al, 2017).

Tabela 3 - Propriedades físico-químicas da série DG (6a-g).

SÉRIE DG	a	b	c	d	e	f	g	h	i	J	Nº VIOLAÇÕES (parâmetro)				
	Nº de átomos	MM (g/mol)	ALH	DLH	TPSA (Å ²)	Volume (Å ³)	Log P	Log S	NLR	Drug-likeness	Lipinski	Ghose	Veber	Egan	Muegge
NDIBP (6a) C ₁₁ H ₂₃ NO ₅	40	249,3	5	0	73,51	246,86	1,76	-4,14	10	-1,18	0	0	0	0	0
NDPP (6b) C ₁₃ H ₂₇ NO ₅	46	277,36	5	0	73,51	280,89	2,62	-5,09	14	-1,17	0	0	1 ⁱ	0	0
NDIPP (6c) C ₁₃ H ₂₇ NO ₅	46	277,36	5	0	73,51	280,46	2,41	-4,87	12	-0,92	0	0	1 ⁱ	0	0
NDHP (6d) C ₁₅ H ₃₁ NO ₅	52	305,41	5	0	73,51	314,49	3,32	-6,22	16	-1,17	0	0	1 ⁱ	0	1 ⁱ
NDOP (6e) C ₁₉ H ₃₉ NO ₅	64	361,52	5	0	73,51	381,70	4,81	-8,46	20	-1,17	0	0	1 ⁱ	0	2 ^{g, i}
NDDP (6f) C ₂₃ H ₄₇ NO ₅	76	417,63	5	0	73,51	448,91	6,27	-10,71	24	-1,17	0	2 ^{a,g}	1 ⁱ	1 ^g	2 ^{g, i}
NDDDP (6g) C ₂₇ H ₅₅ NO ₅	88	473,74	5	0	73,51	516,12	7,70	-12,96	28	-1,17	1 ^g	3 ^{a,g,*}	1 ⁱ	1 ^g	2 ^{g, i}

Legenda: Calculados no Swiss ADME (<http://www.swissadme.ch/index.php>) MM – Massa Molar; ALH – número de aceptores de ligação de hidrogênio; DLH – número de doadores de ligação de hidrogênio; TPSA – área superficial topológica polar; Log P – valor médio determinado a partir de 5 métodos diferentes de obter o coeficiente de partição n-octanol/água; Log S – coeficiente de solubilidade determinado pelo método Ali, numa escala que considera valores abaixo de -8,48 como praticamente insolúveis (ordem de 10⁻⁹mg/mL) e extremamente solúvel acima de 1,58 (ALI et al, 2012); NLR – número de ligações rotativas.

Calculado no Molinspiration (<http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>) Volume – volume molecular medido com base em análises 2D e 3D.

Druglikeness em valor quantitativo foi calculado no Molsoft (<http://www.molsoft.com>) – apresentado numa escala de -6,0 a +6,0

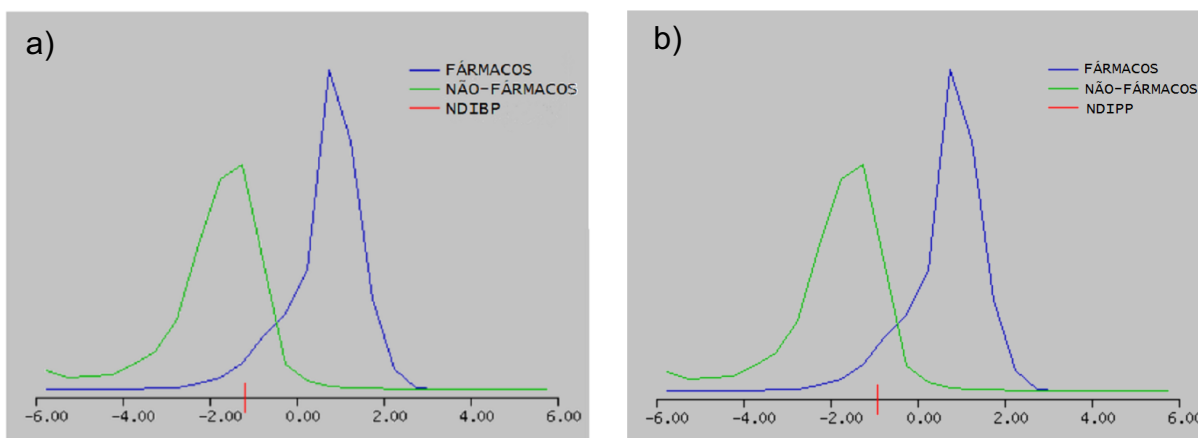
Para determinar número de violações em *druglikeness* tem-se: LIPINSKI – MM ≤ 500; Log P ≤ 4,15; ALH ≤ 10; DLH ≤ 5 (LIPINSKI et al, 1997). GHOSE – MM entre 160 e 480; Log P entre -0,4 e 5,6; Refratividade molar entre 40 e 130; número de átomos entre 20 e 70 (GHOSE et al, 1999). EGAN – Log P ≤ 5,88; TPSA ≤ 131,6 (EGAN et al, 2000). MUEGGE – MM entre 200 e 600; Log P entre -2 e 5; TPSA ≤ 150; NLR ≤ 15; ALH ≤ 10; DLH ≤ 5 (MUEGGE et al, 2001). VEBER – NLR ≤ 10; TPSA ≤ 140 (VEBER et al, 2002).

*Refratividade molar do NDDDP = 143,26 (não apresentado nesta tabela por ser um parâmetro considerado irrelevante pelos estudos atuais)

Analisando o gráfico 1, podemos verificar que o NDIBP (6a) apresenta excelentes condições para uma boa biodisponibilidade se administrado por via oral, pois quase todos os pontos plotados no gráfico, correlacionando seis parâmetros físico-químicos, estão na área que apresenta os padrões ideais. A busca por fármacos que possam ser administrados via oral é prioritária na indústria farmacêutica, por ser a via mais segura, conveniente e econômica. Apenas o ponto referente a flexibilidade ficou fora da área do radar, pois o NDIBP possui 10 ligações rotacionáveis, uma a mais que o padrão estabelecido. O NDIBP e os nitratos com 5 e 6 carbonos da série DG (6a-g) também apresentaram boas condições farmacocinéticas no estudo *in silico*, fugindo do padrão do radar apenas no ponto flexibilidade. Os demais nitratos, em função do aumento da lipofilicidade e redução da polaridade tornam-se não atrativos a estudos que visem fármacos a serem administrados via oral. Porém, dependendo de sua atividade biológica, pode-se buscar outras formas de administração, tais como sublingual, injetável, dermatológico, entre outros.

Embora tenha apresentado os melhores padrões, o NDIBP não foi a molécula que apresentou maior similaridade com outros fármacos. Este critério foi atendido pelo NDIPP. Mas a diferença não é muito significativa, como mostra a Figura 11.

Figura 11 - Gráficos de druglikeness model score (<http://www.molsoft.com>) a) NDIBP = -1,18 b) NDIPP = -0,92



Vale ressaltar que os estudos *in silico* são importantes mas não determinantes para o andamento de uma pesquisa de novos fármacos, outros parâmetros devem ser considerados, principalmente a atividade biológica e a toxicidade do composto.

A Tabela 4 apresenta as propriedades físico-químicas e a análise de *druglikeness* para os demais nitratos sintetizados. Verificamos que a diminuição na cadeia carbônica, com aumento no número dos grupos ativos, proposta no NBD, promove uma diminuição significativa na lipofilicidade, por aumento na polaridade da molécula. Esta diminuição no caráter hidrofóbico pode ser compensada pelo menor peso molecular e menor volume molar, permitindo que a molécula seja distribuída pelo organismo de modo facilitado, mas gera três violações nos padrões *druglikeness* por apresentar $MM < 200$ g/mol, o que não é comum entre os fármacos. O incremento no número de aceptores de ligação de hidrogênio no NDEG e consequente aumento no tamanho da molécula faz diminuir o número de violações apresentadas, sendo agora apresentada apenas no número de ligações rotativas, segundo os padrões estabelecidos por Veber et al (2002). A formulação do TNDEG, com quatro grupos nitratos tende a apresentar maior atividade biológica, porém foge aos padrões dos fármacos, com 7 violações na análise de *druglikeness*, além de solubilidade muito baixa o que pode dificultar bastante a distribuição e excreção desta molécula do organismo.

Os nitratos cíclicos sintetizados apresentaram valores intermediários de lipofilicidade e os compostos bis-NTHF e o NFCHD não apresentaram violações, comportando-se completamente dentro dos padrões considerados. O TNIS, formulado com mesma cadeia base de dois fármacos já disponível no comércio (mononitrato de isossorbida e dinitrato de isossorbida) fugiu aos padrões das cinco regras consideradas.

Tabela 4 - Propriedades físico-químicas dos nitratos alifáticos, nitratos cíclicos e nitratos-ésteres

NITRATOS ALIFÁTICOS	a	b	c	d	e	f	g	h	i	J	Nº VIOLAÇÕES ^(parâmetro)				
	Nº de átomos	MM (g/mol)	ALH	DLH	TPSA (Å ²)	Volume (Å ³)	Log P	Log S	NLR	Drug-likeness	Lipinski	Ghose	Veber	Egan	Muegge
NBD (24) C ₄ H ₈ N ₂ O ₆	20	180,1	6	0	110,10	144,48	-0,10	-3,40	7	-0,52	0	1 ^b	0	0	2 ^{b,*}
NDEG (12) C ₆ H ₁₂ N ₂ O ₈	28	240,17	8	0	128,58	153,46	-0,49	-3,11	11	-0,93	0	0	1 ⁱ	0	0
TNDEG (11) C ₁₂ H ₂₂ N ₄ O ₁₆	54	478,32	16	0	257,12	336,93	-1,18	-6,30	23	-0,55	1 ^c	0	2 ^{e,i}	1 ^e	3 ^{c,e,i}
CÍCLICOS															
NCH (22) C ₆ H ₁₁ NO ₃	20	145,16	3	0	55,05	134,95	1,20	-3,10	2	-1,53	0	2 ^{b,**}	1 ⁱ	0	1 ^b
bis-NTHF (16) C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₈	36	292,24	8	0	128,56	241,68	0,26	-4,03	7	-0,75	0	0	0	0	0
NFCHD (20) C ₁₆ H ₂₇ NO ₅	49	313,39	5	0	73,51	299,36	2,65	-4,86	6	-0,40	0	0	0	0	0
ÉSTERES															
NE1 (28a) C ₆ H ₁₁ NO ₅	23	177,16	5	0	81,35	156,69	0,39	-2,40	7	-0,98	0	0	0	0	1 ^b
NE2 (28b) C ₁₁ H ₁₃ NO ₅	30	239,22	5	0	81,35	211,54	1,81	-4,96	8	0,05	0	0	0	0	0
NE3 (28c) C ₁₁ H ₁₂ ClNO ₅	30	273,67	5	0	81,35	225,07	2,37	-5,32	8	0,37	0	0	0	0	0
NE4 (28d) C ₁₂ H ₁₅ NO ₆	34	269,25	6	0	90,58	237,08	1,79	-4,84	9	0,22	0	0	0	0	0

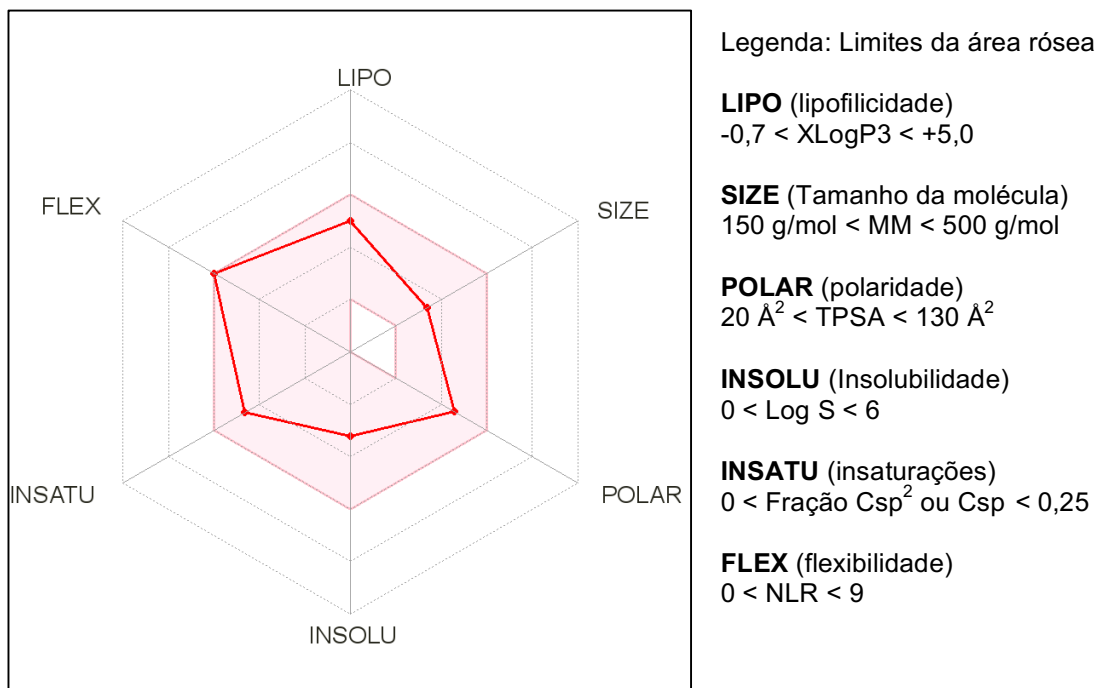
*Número de carbonos; **refração molar = 38,03 < 40;

Legenda – ver tabela 2

A série dos nitratos-ésteres apresentaram os melhores resultados no estudo *in silico*, quanto as propriedades físico-químicas, não apresentando violações (apenas uma para o NE1) e alta similaridade com outros fármacos. Estas características são atribuídas a presença do grupo éster, que promove mudanças consideráveis no comportamento da molécula, atribuindo a elas uma menor lipofilicidade e maior solubilidade, se comparada a uma molécula de peso molecular equivalente da série DG.

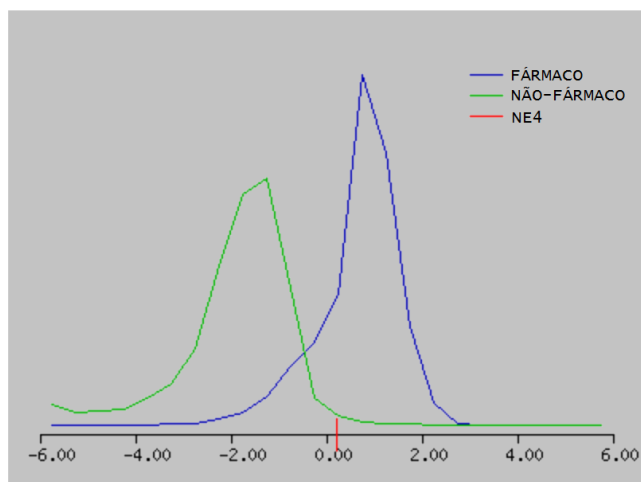
Para demonstrar essa melhora nos parâmetros dos nitratos-ésteres vale analisar o radar de biodisponibilidade de um de seus representantes. O Gráfico 2 mostra a correlação de várias propriedades para o NE4 e a Figura 12 apresenta a análise quantitativa de *druglikeness*.

Gráfico 2 - Radar de biodisponibilidade do NE4 (28d) – apresenta a correlação entre tamanho da molécula, flexibilidade, solubilidade, lipofilicidade, saturação e polaridade.



Nota: A área rósea representa as condições excelentes para biodisponibilidade por administração do fármaco via oral (DAINA et al, 2017).

Figura 12 - Gráfico de *druglikeness model score* (<http://www.molsoft.com>) (28d) NE4 = 0,22



Mas é importante verificar que não apenas o grupo éster promoveu variações nas propriedades dos nitratos-ésteres, pois observa-se também um aumento considerável no aspecto quantitativo de *druglikeness* com a incorporação do radical aromático nas moléculas de NE2 (28b), NE3 (28c) e NE4 (28d), em comparação com a NE1 (28a) que não apresenta aromaticidade, o valor muda de -0,98 no NE1 (28a) para 0,37 no NE2 (28b).

5.5.1.2 Estudo *in silico* das interações dos nitratos com proteínas e enzimas.

Além das propriedades físico-químicas também foi realizada a importante análise quanto à interação destas moléculas com as proteínas e com as enzimas hepáticas, principalmente as isoformas da enzima citocromo P-450 oxidase, identificadas como CYP, que são responsáveis por metabolizar os xenobióticos (HOLLENBERG, 2002).

Este grupo de enzimas analisadas, quando inibida pela molécula altera as condições de biotransformação, podendo ocasionar interações medicamentosas por combinação de fragmentos de diferentes fármacos (HOLLEMBERG, 2002). Estas interações podem ocasionar tanto a potencialização quanto a inativação de um fármaco, podendo causar também um aumento drástico em sua toxicidade (HUANG et al, 2008). A Tabela 5 mostra que a maioria dos compostos estudados não inibe as enzimas em análise, e este comportamento é muito importante, sobretudo no que

Capítulo 5: Resultados e Discussão

concerne a excreção destas moléculas e de outras que estejam em uso concomitante. As moléculas de maior peso molecular da série DG apresentam elevada lipofilicidade, o que dificulta sua excreção por via urinária, mas como apresentado na Tabela 5, elas não inibem as isoformas da enzima citocromo P-450 oxidase, e isto implica que serão metabolizadas com certa facilidade pelo fígado e excretadas na sua forma biotransformada.

Tabela 5 - Comportamento farmacocinético dos nitratos sintetizados mediante padrões de absorção, interação com p-GP e inibição das isoformas da enzima citocromo P-450 oxidase.

Série DG	AGI	BHE	p-GP	CYP1A2	CYP2C19	CYP2C9	CYP2D6	CYP3A4
NDIBP (6a)	Alta	S	N	N	N	N	N	N
NDPP (6b)	Alta	S	N	N	N	N	N	N
NDIPP (6c)	Alta	S	N	N	N	N	N	N
NDHP (6d)	Alta	S	N	N	N	N	N	S
NDOP (6e)	Alta	N	S	N	N	N	N	S
NDDP (6f)	Baixa	N	S	N	N	N	N	S
NDDDP (6g)	Baixa	N	N	N	N	N	N	S
Nitratos Alifáticos								
NBD (24)	Alta	N	N	N	N	N	N	N
NDEG (12)	Alta	N	N	N	N	N	N	N
TNDEG (11)	Baixa	N	S	N	N	N	N	N
Nitratos Cíclicos								
NCH (22)	Alta	S	N	S	N	N	N	N
bis-NTHF (16)	Alta	N	N	N	N	N	N	N
NFCHD (20)	Alta	S	N	N	N	N	N	N
Nitratos-ésteres								
NE1 (28a)	Alta	N	N	N	N	N	N	N
NE2 (28b)	Alta	N	N	S	S	N	N	N
NE3 (28c)	Alta	N	N	S	S	N	N	N
NE4 (28d)	Alta	N	N	S	S	N	N	N

LEGENDA: S- sim N – não

AGI – Absorção pelo gastrointestinal (alta – quando a absorção ocorre passivamente)

BHE – permeia a barreira hematoencefálica (Sim – molécula capaz de atravessar a barreira)

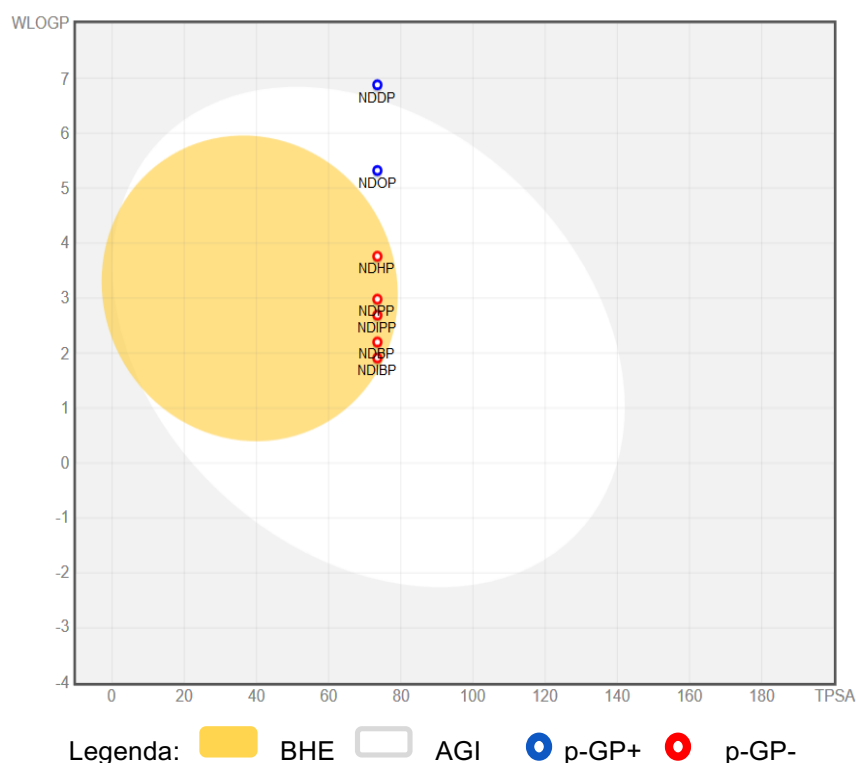
p-GP – associação com a p-glicoproteína (Sim – a molécula associa-se a proteína como um substrato)

CYP...- isoformas da enzima citocromo P-450 oxidase (Sim – quando a molécula inibe ou ativa a enzima)

Outro parâmetro apresentado na Tabela 5 é a interação com a p-glicoproteína, que, segundo Azeredo et al (2009), trata-se de um produto do gene multirresistente a fármacos (MDR1), que age como uma bomba de efluxo ATP-dependente que transporta fármacos e outros xenobióticos para fora das células do fígado, rins, cérebro, trato gastrointestinal, das células tumorais e das células das barreiras hemato-teciduals. Logo, está envolvida diretamente com todos os

parâmetros ADME de diferentes fármacos. A associação da molécula do fármaco com a p-GP como substrato pode interferir na sua atuação, pois fica indisponível para outros processos biológicos, diminuindo a sua biodisponibilidade, mas a relação de alguns fármacos de difícil excreção com esta proteína é muito importante para evitar a bioacumulação. A maioria dos fármacos que associam-se a p-GP possuem massa molar superior a 400 g/mol (KERNS, 2008). Mas há relação também com a área superficial polar topológica (TPSA) e com a lipofilicidade (na forma de Log P), como apresentado nos Gráficos 3 e 4, de correlação entre estas propriedades, na forma de BOILED-Egg, plotado no programa SwissADME.

Gráfico 3 - Correlação entre WLogP e TPSA, na forma de BOILED-Egg, para os nitratos da série DG (6a-g).



Nota: BHE – moléculas na área amarela do gráfico são capazes de atravessar a barreira hematoencefálica

AGI – Moléculas absorvidas passivamente pelo trato gastrointestinal

p-GP+ - Moléculas que associam-se a p-glicoproteína

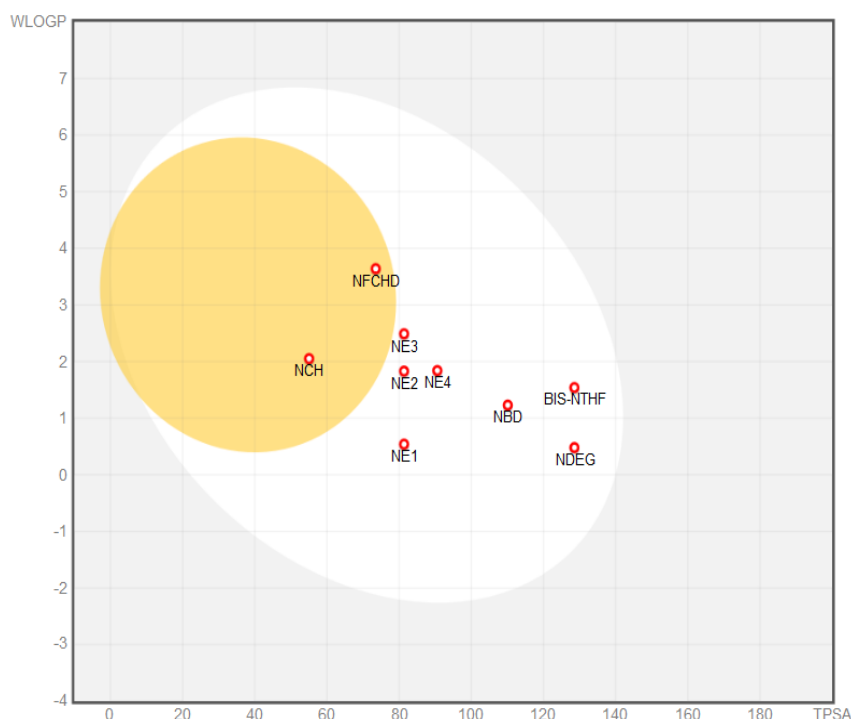
p-GP- - Moléculas que não associam-se a p-glicoproteína

Fonte: Daina et al. (2016)

Outras análises importantes também estão apresentadas na tabela 5 e nos gráficos 3 e 4, que trata-se mais especificamente da capacidade de a molécula ser absorvida, na forma de BHE e AGI. Pela estrutura do gráfico, percebe-se que as

moléculas que atravessam a barreira hemato-encefálica também são absorvidas passivamente pelo trato gastrointestinal. A capacidade de atravessar a BHE só é interessante quando o alvo clínico é alguma função cerebral, se não, o medicamento tenderá a ocasionar efeitos colaterais, tais como cefaléia, sonolência, tontura, perda parcial da visão, entre outros. Já a capacidade de ser absorvida passivamente pelo trato gastrointestinal é de grande interesse, pois esta propriedade está diretamente relacionada com a possibilidade do fármaco ser administrado via oral. A área branca do gráfico é a maior parcela e engloba a maioria das moléculas propostas neste trabalho. As moléculas que ficaram plotadas na área cinza apresentam dificuldade de absorção e as moléculas que ficaram fora deste gráfico de correlação são consideradas por Daina et al. (2016) como fora dos padrões de um candidato a fármaco.

Gráfico 4 - Correlação entre WLogP e TPSA, na forma de BOILED-Egg, para os nitratos não-seriados.



Legenda: BHE AGI ● p-GP+ ● p-GP-

Nota: BHE – moléculas na área amarela do gráfico são capazes de atravessar a barreira hematoencefálica

AGI – Moléculas absorvidas passivamente pelo trato gastrointestinal

p-GP+ - Moléculas que associam-se a p-glicoproteína

p-GP- - Moléculas que não associam-se a p-glicoproteína

Fonte: Daina et al. (2016)

5.5.1.3 Estudo *in silico* de toxicidade dos nitratos

Os estudos *in silico* para a previsão de propriedades toxicológicas tem ganhado cada vez mais destaque, sendo utilizados como complemento aos estudos *in vitro* e *in vivo*. Os estudos *in silico* têm como vantagem a rapidez na sua execução, o baixo custo e a capacidade de reduzir o uso de animais em ensaios de toxicidade. A tabela 6 apresenta os resultados de testes *in silico* de toxicidade dos nitratos sintetizados. Foram considerados os riscos mutagênico, tumorigênico, reprodutivo e irritante.

Tabela 6 - Análise de toxicidade dos nitratos sintetizados.

Série DG	Mutagênico	Tumorigênico	Reprodutivo	Irritante
NDIBP (6a)	N	N	N	A
NDPP (6b)	N	N	A	N
NDIPP (6c)	N	N	A	B
NDHP (6d)	N	N	A	A
NDOP (6e)	N	N	A	N
NDDP (6f)	N	N	A	N
NDDDP (6g)	N	N	A	N
Nitratos Cíclicos				
NCH (22)	N	N	N	N
bis-NTHF (16)	N	N	N	N
NFCHD (20)	N	N	N	N

LEGENDA: N – não A – Alta B – baixa M – média

Entre os candidatos a fármaco da série DG apenas o NDIBP (6a) e o NDPP (6b) apresentaram um único grupo de risco, sendo o risco de causar irritação, apresentado pelo NDIBP considerado de menor gravidade. Deste modo, somando todas as informações do estudo *in silico*, conclui-se que, da série DG (6a-g), o NDIBP (6a) é o melhor candidato a fármaco.

A atividade biológica é medida no estudo *in silico* com base no índice de biodisponibilidade (A Bioavailability Score – ABS), padronizado por Martin (2005), é formulado como probabilidade de que um composto tenha uma biodisponibilidade superior a 10%, em ratos ou permeabilidade Caco-2 mensurável. Valores acima de

Capítulo 5: Resultados e Discussão

0,00 são consideradas moléculas bioativas. Todas as moléculas em estudo apresentam ABS = 0,55, logo, são consideradas moléculas com boas chances de apresentar atividade biológica. Este parâmetro foi determinado utilizando o programa SwissADME.

Outra forma de verificar a atividade biológica é analisando o comportamento das moléculas em estudo com as seis principais classes de fármacos em uso. Esta análise foi realizada utilizando o programa on-line Molinspiration, cujo método implementado utiliza estatísticas bayesianas sofisticadas para comparar estruturas de ligantes representativos ativos no alvo particular com estruturas de moléculas inativas e identificar características de subestrutura (que por sua vez determinam propriedades físico-químicas) típicas para moléculas ativas. O resultado desta análise está apresentado na tabela 7.

Tabela 7 - Análise de atividade biológica comparativa às seis principais classes de fármacos (Molinspiration bioactivity score v2016.03)

Série DG	Ligante GPCR	Modulador de canal iônico	Inibidor kinase	Ligante receptor nuclear	Inibidor protease	Inibidor enzima
NDIBP (6a)	-0,41	-0,07	-0,6	-0,46	-0,44	-0,09
NDPP (6b)	-0,13	0	-0,36	-0,25	-0,24	0,12
NDIPP (6c)	-0,16	0,02	-0,38	-0,3	-0,17	0,06
NDHP (6d)	0	0,03	-0,2	-0,09	-0,09	0,17
NDOP (6e)	0,14	0,02	-0,01	0,09	0,1	0,17
NDDP (6f)	0,14	0,02	0	0,1	0,14	0,15
NDDDP (6g)	0,12	0,02	0	0,08	0,12	0,13
Nitratos Alifáticos						
NBD (24)	-0,42	-0,49	-1,12	-1,02	-1,08	0,15
NDEG (12)	-0,42	-0,47	-0,86	-0,93	-1,16	0,07
TNDEG (11)	0,12	-0,27	-0,11	-0,26	-0,21	0,26
Nitratos Cíclicos						
NCH (22)	-0,87	-0,85	-1,72	-1,64	-1,38	0,03
bis-NTHF (16)	-0,17	-0,45	-0,47	-0,51	-0,44	0,2
NFCHD (20)	0,07	-0,34	-0,44	-0,27	-0,16	0,26
Nitratos-ésteres						
NE1 (28a)	-0,47	-0,5	-1,34	-0,97	-0,99	0,2
NE2 (28b)	-0,16	-0,31	-0,66	-0,44	-0,63	0,2
NE3 (28c)	-0,11	-0,29	-0,59	-0,38	-0,6	0,17
NE4 (28d)	-0,11	-0,37	-0,54	-0,29	-0,53	0,16

LEGENDA: Escala de -2 a +2

Quanto mais positivo, maior a similaridade com o grupo de fármacos e maior a chance do candidato a fármaco apresentar atividade biológica. Tomando por base este critério, verifica-se que os compostos com maior probabilidade de apresentarem atividade biológica são os nitratos de maior cadeia carbônica da série DG (6a-g), o NDDP (6f) e o NDDDP (6g), que apresentaram valores positivos no índice de bioatividade para todas as classes de compostos, no entanto, quanto as propriedades físico-químicas determinadas no estudo *in silico*, estes nitratos apresentaram as piores condições farmacocinéticas.

5.5.4 Estudos de atividade cardiovascular

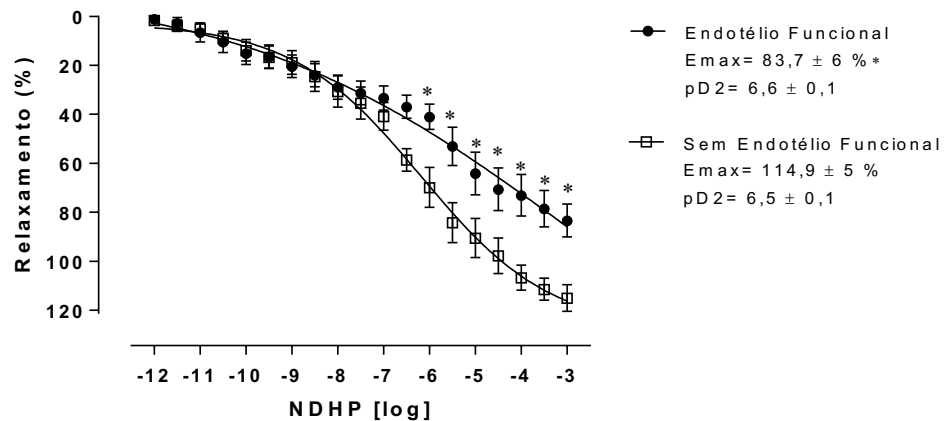
Os testes de atividade cardiovascular foram realizados por um grupo de pesquisa do CBioTec, em laboratórios da UFPB e em parceria com a Uppsala University e o Karolinska Institutet – ambos da Suécia. Os testes estão sendo realizados *in vitro* e *in vivo*.

Resultados preliminares para algumas moléculas serão apresentadas a seguir.

Os testes realizados com o NDHP (6d) comprovaram a ação de vasorrelaxamento esperada para a molécula. O Gráfico 5 demonstra que, quando adicionado ao banho de maneira cumulativa (10^{-12} – 10^{-3} M), o NDHP (6d) promoveu vasorrelaxamento dependente da concentração em anéis de artéria mesentérica cranial isolada de rato pré-contraídos com fenilefrina (FEN), na presença e ausência do endotélio funcional. No entanto, a remoção do endotélio funcional potencializou o efeito máximo promovido pelo NDHP (6d) ($E_{max} = 114,9 \pm 5\%$).

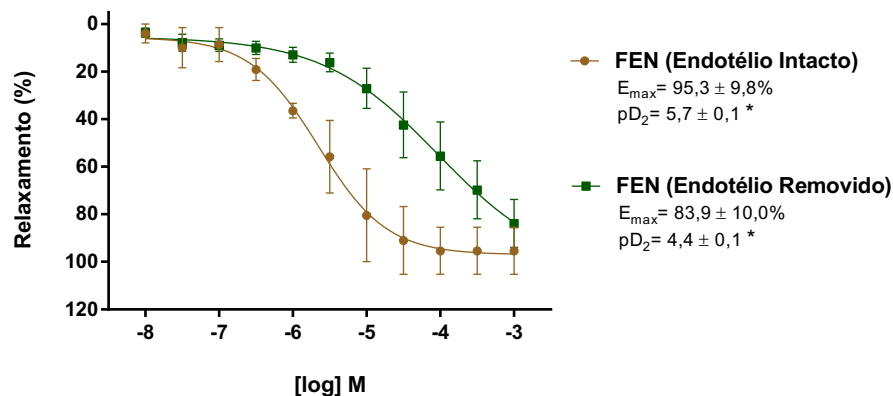
Capítulo 5: Resultados e Discussão

Gráfico 5 - Efeito vasorrelaxante do NDHP (6d) na presença e ausência do endotélio funcional (n = 6, n = 7). Valores expressos como média $\pm$ e. p. m. $p < 0,05$.



Testes comparativos realizados por nosso grupo de pesquisa com o NDHP (6d) e a nitroglicerina (NTG) foram animadores, principalmente no que concerne a redução de indução de tolerância. A NTG apresentou maior potencial vasorrelaxante, compatível com a presença dos três grupos nitrato, enquanto o NDHP (6d) apresenta apenas um, mas o teste com o NDHP (6d) não gerou tolerância ao tratamento, provavelmente por apresentar ativação distinta da molécula de referência, sendo reduzida a NO na presença dos peróxidos, evitando assim o estresse oxidativo.

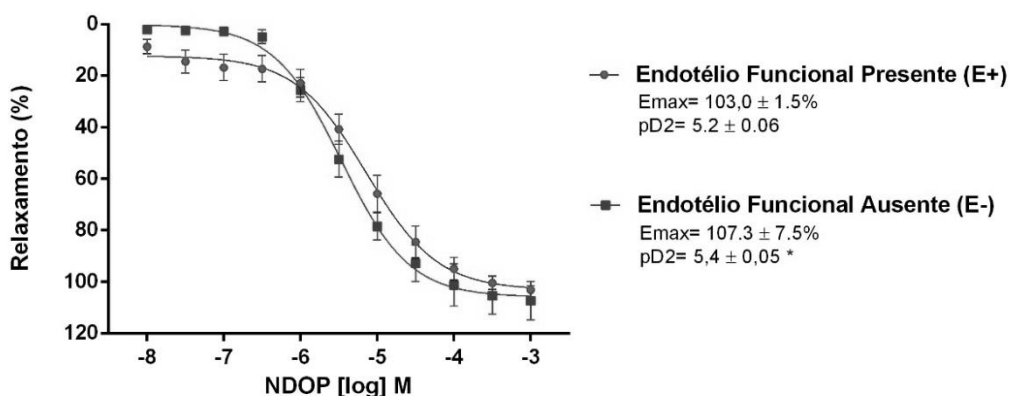
Gráfico 6 - Efeito vasorrelaxante do NDIPP (6c) na presença e ausência do endotélio funcional (n = 6, n = 7). Valores expressos como média $\pm$ e. p. m. $p < 0,05$.



O gráfico 6 apresenta os resultados parciais realizados com o NDIPP (6c). Com esses resultados preliminares, pode-se observar que, após sua administração cumulativa (10^{-8} a 10^{-3} M) em banho de órgãos isolados, o nitrato é capaz de produzir um vasorrelaxamento na presença ($E_{\text{máx}} = 95,3 \pm 9,8\%$, $n=2$) e na ausência ($E_{\text{máx}} = 83,9 \pm 10\%$, $n=7$) do endotélio, o que indica que sua ação é independente da participação do endotélio.

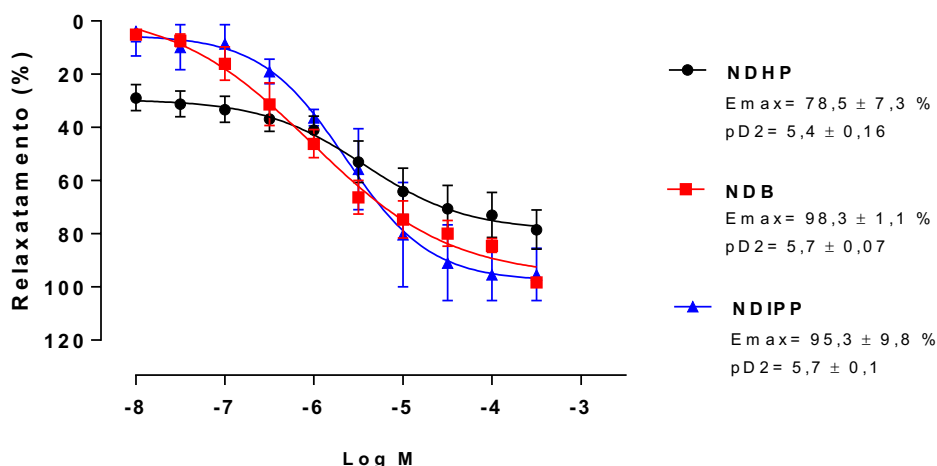
O 2-nitrato-1,3-di(octanóxi)propano (NDOP) (6e) é um dos nitratos orgânicos sintetizados a partir da glicerina, com efeitos farmacológicos até então não investigados. Neste estudo, avalia-se o efeito vasorrelaxante induzido pelo NDOP (6e) em aorta torácica de camundongo C57BL/6 (gráfico 7). Em anéis de artéria aorta pré-contráidos com fenilefrina, o NDOP (6e) (10^{-8} – 10^{-3} M) foi capaz de provocar relaxamento dependente da concentração e esse efeito foi potencializado na ausência do endotélio funcional (pD_2 : 5.4 ± 0.05 , $n = 6$). Esse relaxamento foi atenuado pelo sequestrador de NO, PTIO (200 μ M) e pelo ODQ (10 μ M), inibidor da enzima CGs. Sendo possível concluir que há participação da via clássica de relaxamento do óxido nítrico (NO/GMPc) no efeito induzido pelo NDOP (6e).

Gráfico 7 - Curva de concentração-resposta para o NDOP (10^{-8} – 10^{-3} M) em anéis de aorta torácica isolada de camundongo pré-contráidas na ausência ($n = 6$) e presença ($n = 9$) do endotélio funcional.



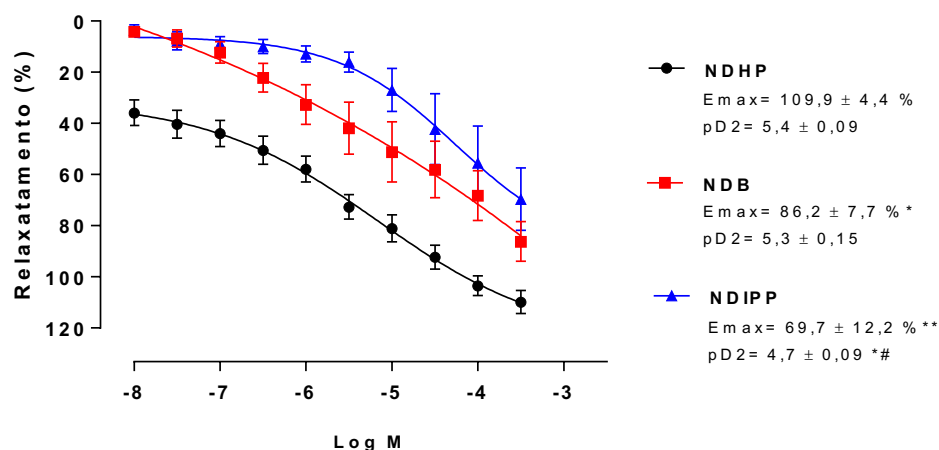
Com a finalidade de avaliar comparativamente os efeitos dos nitratos orgânicos NDHP (6d), NDB (24) e NDIPP (6c), foi preparado um banho de órgãos com anéis mesentéricos superiores isolados de ratos na presença e na ausência do endotélio funcional, cujo resultado comparativo está apresentado no Gráfico 8.

Gráfico 8 - Curva de concentração-resposta para o NDHP (6d), NDB (24) e NDIPP (6c) (10^{-8} – 10^{-3} M) em anéis de aorta torácica isolada de camundongo pré-contraídas na presença do endotélio funcional.



Como observado, todos os nitratos possuem efeito vasorrelaxante de maneira concentração-dependente em anéis mesentéricos superiores isolados de ratos. Comparando seus efeitos (gráfico 9), é possível constatar que apresentam comportamento similar no vasorrelaxamento máximo produzido, bem como no parâmetro de potência, aumentando o efeito com o aumento da concentração, variando em função do tipo de cadeia carbônica, com o NDHP, que possui maior massa molar entre os nitratos testados, apresentando maior resultado absoluto.

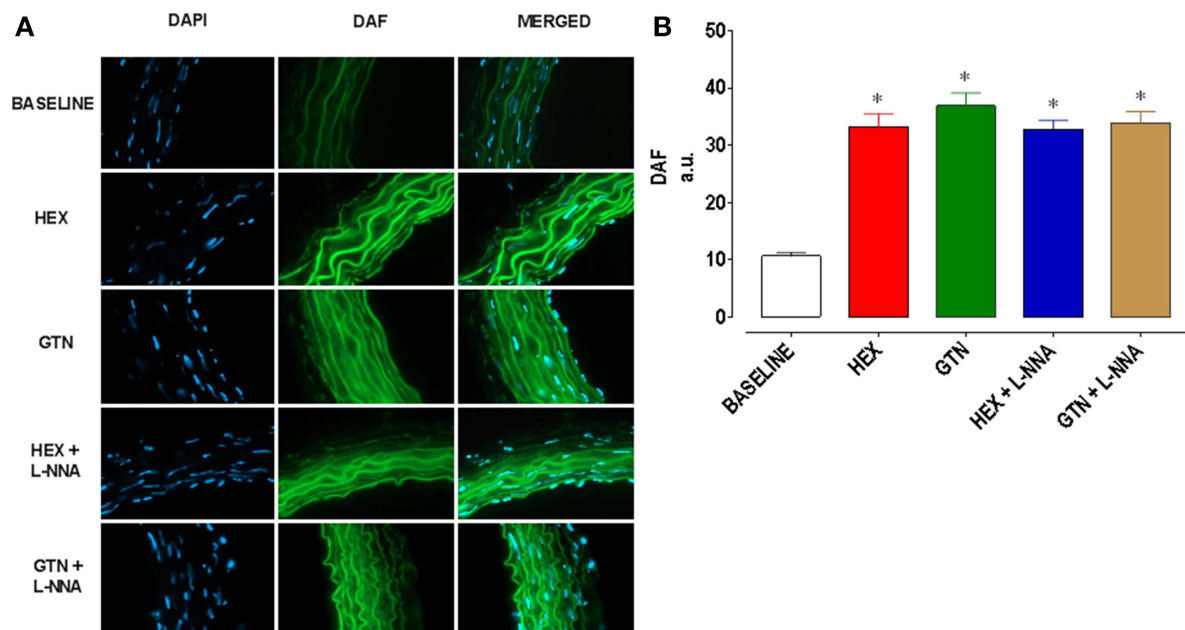
Gráfico 9 - Curva de concentração-resposta para o NDHP (6d), NDB (24) e NDIPP (6c) (10^{-8} – 10^{-3} M) em anéis de aorta torácica isolada de camundongo pré-contraídas na ausência do endotélio funcional.



Quando realizada a remoção do endotélio funcional, foi possível observar o efeito vasorrelaxante, indicando que os nitratos possuem ação independente da presença do endotélio. Comparando os efeitos desses nitratos, é possível observar que o NDHP (6d) possui o maior efeito vasorrelaxante comparado aos outros nitratos. Podemos observar que o aumento da cadeia carbônica leva a efeitos positivamente significativos. Os estudos parciais já citados, impulsionaram um estudo mais completo com o NDHP (6d) publicado por nosso grupo este ano (ZHUGE et al, 2017).

Os testes realizados com o NCH (22) já foram publicados por nosso grupo de pesquisa (MENDES-JÚNIOR et al, 2015) e apontaram também excelentes resultados de potência de relaxamento na presença e ausência de endotélio. Além dos testes *in vitro* realizados com artérias mesentéricas de ratos, foram realizados estudos analíticos de avaliação da liberação de NO pelo nitrato. Os resultados estão apresentados na Figura 13.

Figura 13 - A) Imagem representativa de fluorescência de anéis de artéria mesentérica cranial incubada com DAF-2DA (10 $\mu\text{mol/L}$), em célula de fluorescência permeável para NO. B) Gráfico base que mostra a produção de NO após incubação apenas com DAF-2DA (10 $\mu\text{mol/L}$)



Nota: Fluorescência quantificada por densitometria óptica (unidades arbitrárias)

Foram realizados também análises com o bis-NTHF (16) (deste estudo) e com o NTHF e NCOE (obtido em trabalho anterior) em artérias e veias isoladas de cordão umbilical humano (HUCV) (Figura 14), por compreensão de que as diferenças fisiológicas entre os animais cobaias utilizados e as células humanas provocarem também efeitos de vasorrelaxamento diferenciados (ALUSTAU-FERNANDES, 2015), além de importância de novos estudos com vasodilatadores eficazes em melhorar o fluxo feto-placentário, que possam ser consideradas novas estratégias terapêuticas em afecções associadas à gravidez, como a pré-eclâmpsia. Segundo Alustau-Fernandes (2015), o tônus vascular basal dos HUCV dependem da entrada de cálcio via Cav e tende a se opor ao efeito da maioria dos nitrovasodilatadores. As principais formulações que apresentam efeito vasodilatador não são recomendáveis para tratamento clínico de gestantes em função de efeitos adversos que podem comprometer a saúde do feto, daí a relevância do desenvolvimento de novos compostos com essa potencialidade.

Figura 14 - Comparação da eficácia do relaxamento do tônus basal de HUV induzido pelos nitratos.

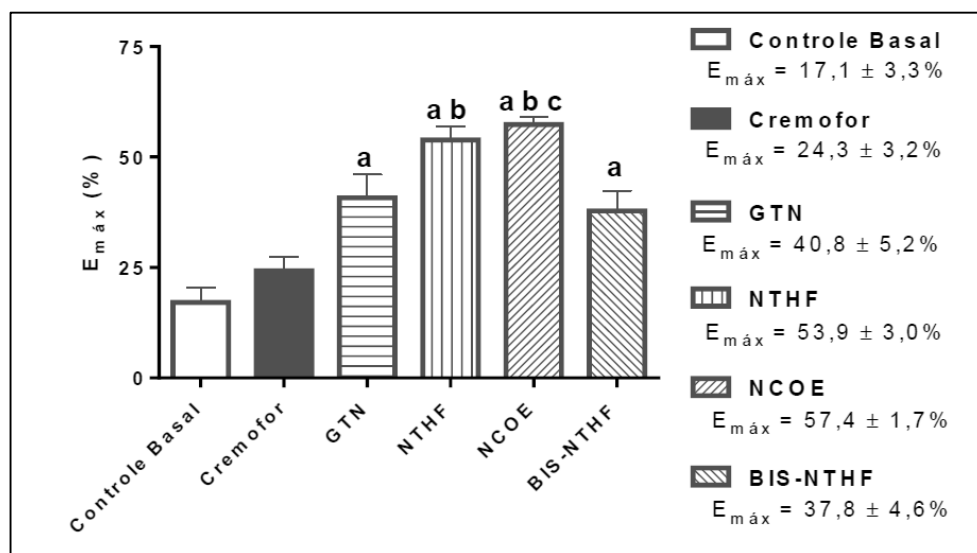


Gráfico comparando valores de $E_{máx}$ do do tônus basal e induzido após a aplicação de cremofor, GTN, NTHF, NCOE ou bis-NTHF. AS barras representam a média de 6 experimentos e as linhas verticais indicam o e.p.m. ^a $p < 0,05$ vs cremofor, ^b $p < 0,05$ vs bis-NTHF, ^c $p < 0,05$ vs GTN. Fonte – Alustau-Fernandes (2015).

A Figura 14 apresenta resultados comparativos de potência de vasorrelaxamento e mostra que o bis-NTHF (16) apresenta potência equivalente ao NTHF e ambos apresentaram efeito superior ao NCOE.

Figura 15 – Comparação da potência do relaxamento do tônus basal de HUV induzido pelos nitratos.

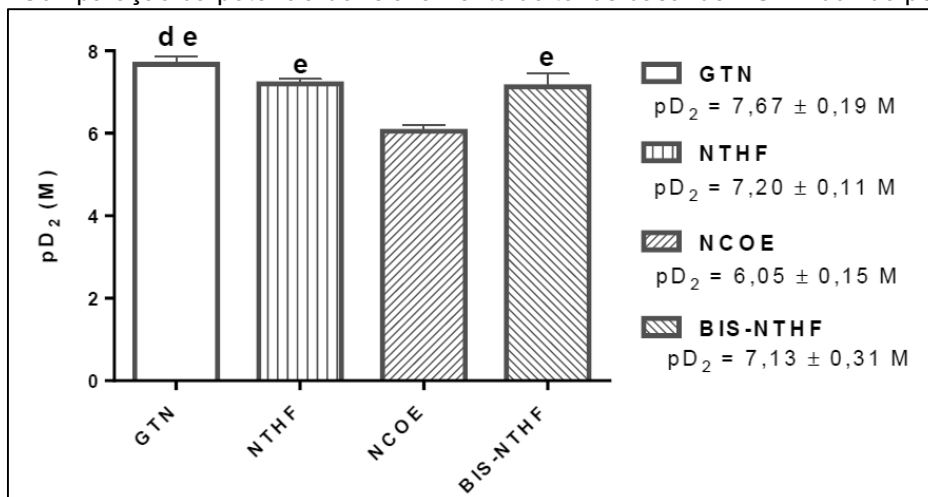


Gráfico comparando valores de pD_2 do relaxamento do tônus basal induzido por GTN, NTHF, NCOE ou bis-NTHF (16) em anéis de HUV. As barras representam a média de 6 experimentos e as linhas verticais indicam o e.p.m. ^d $p < 0,05$ vs NTHF, ^e $p < 0,05$ vs NCOE. Fonte – Alustau-Fernandes (2015).

Os testes em HUV pré-contraídas com 5-HT e com solução de KCl mostraram resultados discrepantes. Em células pré-contraídas com 5-HT o efeito do bis-NTHF (16) foi equivalente ao resultado do NTHF e inferior ao GTN (padrão), mas, quando a indução de contração foi provocada por solução de Krebs modificada por adição de 60mM de KCl, verificou-se que o bis-NTHF (16) apresentou a maior eficácia de vasorrelaxamento, superior ao GTN e mais de 20% maior que a molécula similar NTHF. Atribui-se estes efeitos a liberação dos estoques de cálcio extra e intracelular. Os resultados sugerem que o GTN e o bis-NTHF (16) podem levar a diminuição da liberação de cálcio dos estoques intracelulares, bem como minimizar a atividade de enzimas envolvidas em disfunção endotelial e outras fisiopatologias cardiovasculares (TANAKA; NODE, 2015).

O teste de mecanismo de ação envolvendo o bis-NTHF (16) mostrou que esse nitrato atua sobre as HUA e HUV de modo independente da s-GC.

Capítulo 6

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

6.1 CONCLUSÕES

Considerando os objetivos propostos neste trabalho, conclui-se que:

- O tratamento proposto para a glicerina foi bastante eficiente, garantindo a obtenção de material com elevado grau de pureza (pureza 98%, rendimento 73,2%).
- Partindo do óleo fúsel, foi possível separar por destilação os álcoois isobutílico (3a), n-pentílico (3b), isopentílico (3c), hexílico (3d) e octílico (3e), que foram utilizados na síntese das moléculas alvo.
- Os intermediários propostos foram obtidos com excelentes rendimentos.
- Foram sintetizados 17 nitratos orgânicos, sendo 14 deles moléculas inéditas.
- Os nitratos sintetizados foram caracterizados satisfatoriamente por espectroscopia de RMN ^1H , RMN ^{13}C e IV.
- Os estudos *in silico* mostraram que os nitratos sintetizados são promissores pró-fármacos, atendendo aos parâmetros físico-químicos que influenciam na biodisponibilidade, farmacocinética e farmacodinâmica de uma droga.
- A série dos nitratos-ésteres apresentaram os melhores resultados no estudo *in silico*, quanto as propriedades físico-químicas, não apresentando violações e alta similaridade com outros fármacos. Estas características são atribuídas a presença do grupo éster, que promove mudanças consideráveis no comportamento da molécula, atribuindo a elas uma menor lipofilicidade e maior solubilidade, se comparada a uma molécula de peso molecular equivalente.
- Os testes de atividade cardiovascular foram bastante promissores. Todas as moléculas testadas apresentaram efeito vasorrelaxante similar ou superior aos compostos de referência. Outro importante parâmetro observado foi o fato dos nitratos NDHP e NCH não provocarem estresse oxidativo a nível celular, não promovendo a tolerância ao fármaco.

- De modo geral, observou-se que as variações propostas nas cadeias carbônicas atribuíram qualidades benéficas aos nitratos sintetizados, com destaque para o aumento na cadeia carbônica.

6.2 PERSPECTIVA

A síntese de novos nitratos orgânicos é um campo bastante promissor, sobretudo na classe de nitratos híbridos que podem constituir-se numa nova geração de fármacos para um grande número de problemas fisiopatológicos. Com base nas conclusões apresentadas, as perspectivas para este trabalho de tese são:

- Concluir os testes com as moléculas desenvolvidas neste estudo, direcionando também para atividade antitumoral e anti-inflamatória.
- Sintetizar uma nova série de nitratos híbridos, partindo de compostos heterocíclicos já desenvolvidos por nosso grupo de pesquisa.

Capítulo 7

METODOLOGIA

7. METODOLOGIA

7.1 MATERIAIS E MÉTODOS

As sínteses foram realizadas no Laboratório de Pesquisas em Bioenergia e Síntese Orgânica (LPBS), do Departamento de Química da Universidade Federal da Paraíba (DQ-UFPB).

Foram utilizados chapas de aquecimento a agitação magnética com rotação máxima de 2400 rpm, sistema de rotaevaporador com redução de pressão na ordem de 25 inHg, manta aquecedora com temperatura máxima de 600 °C, agitador mecânico Fisatom[®] com hélice em aço inoxidável e rotação máxima de 5000 rpm, sistema de destilação por acoplamento de vidrarias, utilizando coluna de Vigreux de 20, 40 ou 80 cm.

Os reagentes obtidos comercialmente foram utilizados sem purificação prévia. Os solventes foram secos utilizando peneira molecular do tipo Zeólita 3A (diâmetro de poro 3 Å). O furfural, para este trabalho, foi adquirido comercialmente, mas antes da utilização, foi destilado à vácuo (120 °C, com redução de pressão de 20 inHg), para eliminação de produtos de oxidação. Os álcoois superiores utilizados (isobutanol, n-pentanol, isopentanol, hexanol e octanol) foram destilados do óleo fúsel. A glicerina utilizada foi oriunda de reação de transesterificação da produção de biodiesel. Esta glicerina bruta foi previamente purificada antes do uso. A purificação da glicerina foi realizada no Laboratório de Química Básica do Instituto Federal da Paraíba, *campus* Campina Grande.

O acompanhamento das reações foi realizado por Cromatografia em Camada Delgada (CCD). A detecção foi realizada utilizando solução metanólica de ácido fosfomolibdico-sulfúrico como revelador. As reações de redução das chalconas foram realizadas em Reator Parr acoplado a sistema de injeção de hidrogênio com válvula de alta pressão, que apresenta controlador de temperatura e agitação mecânica com taxa de rotação de 3000 rpm, instalado no Laboratório de Combustíveis e Materiais da Universidade Federal da Paraíba (LACOM-UFPB).

Os compostos obtidos foram caracterizados por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN ^1H – 200 MHz e ^{13}C – 50 MHz), utilizando espectrômetro Varian Mercury Spectra AC 20. Os deslocamentos químicos foram determinados em função do padrão interno de tetrametilsilano (TMS), usando clorofórmio deuterado (CDCl_3) como solvente. Os espectros de infravermelho foram obtidos no espectrofotômetro FTIR modelo IRPrestige do fabricante Shimadzu usando acessório ATR (Attenuated Total Reflectance).

O estudo *in silico* foi realizado utilizando o software livre do programa **SwissADME** (<http://www.swissadme.ch>) para varredura das propriedades físico-químicas das moléculas que apresentam correlação com os parâmetros ADME. Os testes de toxicidade foram realizados utilizando o programa **Osiris Property Explorer** (<http://www.organic-chemistry.org.prop.peo>) e a avaliação quantitativa de *druglikeness* utilizando o programa *on-line* **Molsoft Molecules in silico** (<http://www.molsoft.com/mprop/mprop.cgi>).

Os estudos de atividade cardiovascular *in vitro* e *in vivo* foram realizados por nosso grupo de pesquisa do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba (CBioTec-UFPB) no Laboratório de Controle Neural da Circulação e Hipertensão Arterial (LACONCHA) e no Laboratório de Cardiologia Vascular, além dos testes realizados no Karolinska Institutet e na Uppsala University – ambos da Suécia.

7.2 PURIFICAÇÃO DOS REAGENTES

7.2.1 Destilação do Óleo Fúsel

O óleo fúsel utilizado nesta pesquisa foi fornecido pelo SINDALCOOL (Sindicato das indústrias de fabricação de álcool do Estado da Paraíba).

Considerando que o óleo fúsel é uma mistura de compostos com pontos de ebulição muito próximos, foi necessário realizar uma destilação fracionada. Foi montada uma coluna de destilação com 1,2m de comprimento (duas colunas de

Vigreux acopladas, medindo 40 cm e 80 cm). Foi utilizado um balão de fundo redondo com capacidade de 6L, no qual foram adicionadas quatro porções de 4L de óleo fúsel. Foram acoplados os demais equipamentos para a destilação e o termômetro para controle da temperatura. O sistema foi revestido em material laminado para minimizar as trocas de calor com o meio. O processo foi realizado a pressão ambiente.

7.2.2 Purificação da Glicerina Bruta

A metodologia de purificação da glicerina realizada foi uma adaptação do processo descrito por Ferreira (2009).

A glicerina bruta utilizada foi obtida como coproduto de reações de preparação de biodiesel de soja realizadas pelo grupo de pesquisa no LPBS. Foram tratadas cerca de 5 Kg de glicerina bruta.

Foram separadas alíquotas de 100 g de glicerina bruta, que foi acidificada com $\text{H}_2\text{SO}_{4(\text{aq})}$ (6N), até pH 4, a temperatura constante de 60 °C. Em seguida, a glicerina foi transferida para funil de separação e mantida em repouso por 2 horas para decantação. A glicerina pré-tratada neste processo fica na fase intermediária do funil. Após separada a glicerina foi filtrada à vácuo em funil de placa porosa. O filtrado foi neutralizado a temperatura ambiente com $\text{NaOH}_{(\text{aq})}$ (6N). A glicerina já neutralizada foi novamente filtrada à vácuo, em funil de buchner com papel de filtro qualitativo coberto por uma camada de 3 cm de sílica gel (300 – 400 mesh).

Para aumentar o teor de glicerol separado, foi realizado um processo de *salting-outing* utilizando etanol (pureza > 99,9%) numa proporção de 2:1 etanol/glicerina bruta. A mistura ficou em repouso *overnight* e foi novamente filtrada em sílica. O filtrado foi rotaevaporado. Na sequência, a glicerina foi transferida para um béquer e colocada em estufa a 105 °C, por 72 horas, sendo agitada a cada 6 horas para facilitar a eliminação da umidade.

O teor de glicerol presente na glicerina tratada foi determinado utilizando a técnica da iodometria, pelo método ABNT NBR 15344.

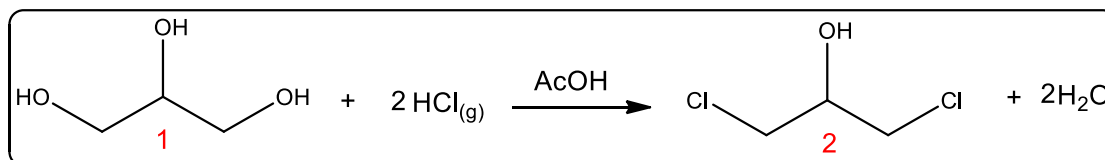
Após o pré-tratamento, a glicerina foi purificada por destilação à alto vácuo (redução de pressão na ordem de 30 inHg) em temperatura na faixa de 180 –

190 °C. O procedimento foi repetido. Para clarificação da glicerina bidestilada obtida, com pureza superior a 98% em teor de glicerol, foram adicionadas 3 g de carvão ativado em pó (VETEC) para cada 50 mL da mistura. O sistema ficou sob agitação constante (1800 rpm) por 3 horas, em seguida foi centrifugado (3000 rpm, por 30 minutos) e a fase sobrenadante foi filtrada para remoção de todo o resíduo de carvão. O produto resultou em um líquido viscoso, incolor e inodoro.

7.3 METODOLOGIAS DE SÍNTESE DOS COMPOSTOS INTERMEDIÁRIOS DERIVADOS DA GLICERINA

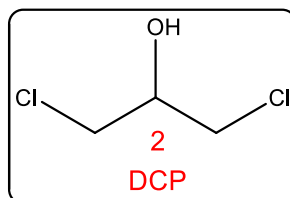
7.3.1 Obtenção da Halohidrina 1,3-dicloro-propan-2-ol (DCP) (2)

Esquema 31 - Reação de obtenção da DCP.



O 1,3-dicloropropan-2-ol foi obtido pela reação da glicerina com o HCl_(g). Previamente a glicerina foi colocada em estufa por 24h a 105 °C, para retirada de umidade. Inicialmente a glicerina seca (95 g) foi transferida para um balão de fundo redondo com três bocas, ao qual foi adicionado 9,5 g de ácido acético glacial. O sistema foi acoplado a condensador e aquecido a 110 °C, mantendo-se a temperatura constante, sob agitação magnética (1200 rpm), durante 15 minutos. Em seguida, foi acoplado um sistema tubular protegido contra umidade, através do qual foi borbulhado o ácido clorídrico gasoso na mistura reacional. O HCl_(g) foi gerado pelo gotejamento de ácido sulfúrico concentrado sobre uma massa pastosa de cloreto de sódio e ácido clorídrico (12N). Para este procedimento foram utilizados 100mL de ácido sulfúrico concentrado (98%), 100g de cloreto de sódio e 168mL de ácido clorídrico (36,5%, 200g, 2mol). A reação foi encerrada quando não mais é observada a absorção de gás pela glicerina. Verificou-se um aumento de 25% no volume do material contido no balão reacional. A mistura foi resfriada à temperatura

ambiente e em seguida neutralizada com $\text{NaOH}_{(\text{aq})}$, para eliminação do ácido excedente no meio. Posteriormente foi realizada destilação fracionada para a separação das substâncias presentes no meio reacional, que foram: água, glicerina residual, monocloridrina e a halohidrina 1,3-dicloro-propan-2-ol (DCP).



Espectroscopia na região de Infravermelho (cm^{-1}): 3460 (O-H), 2992, 1438 (C – H), 1270 (C – O), 851, 733 (C – Cl).

Espectroscopia de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz, δ ppm): δ 4.02 (p, 1H, H-1), 3.64 (d, 4H, H-2 e H-2'), 2.65 (s, 1H, OH).

Espectroscopia de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz, δ ppm): δ 70.61 (C-1), 45.53 (C-2 e C-2').

7.3.2 Metodologia geral para obtenção dos alcóxidos (4a-g)

Esquema 32 - Reação de preparação do alcóxido.

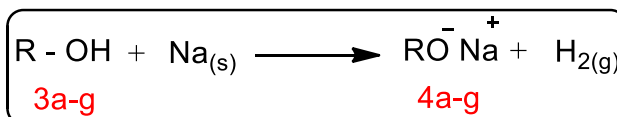


Tabela 8 - Condições de reação para preparação dos alcóxidos (4a-g).

Entrada	Proporção molar álcool/Na	Tempo (h)
a	4:1	3
b	4:1	3
c	4:1	3,5
d	5:1	5
e	6:1	5
f	8:1	6,5
g	8:1	8

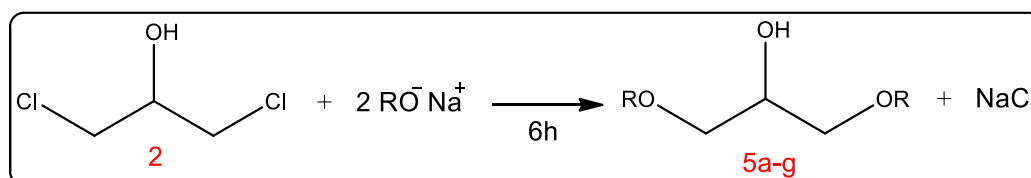
R = a) $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2$; b) $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4$; c) $(\text{CH}_3)_2\text{CH}(\text{CH}_2)_2$; d) $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5$; e) $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7$; f) $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9$; g) $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}$.

Foram obtidos utilizando um balão contendo o álcool correspondente na proporção apresentada na tabela 7, ao qual foi adicionado 1 mol de sódio metálico finamente cortado. A mistura foi mantida sob agitação constante, em banho de gelo, até total consumo do sódio adicionado.

Todos os alcóxidos preparados apresentaram propriedades semelhantes, resultando em um líquido viscoso de coloração avermelhada. Foram utilizados imediatamente após sua preparação, sem passar por etapas de tratamento e caracterização.

7.3.3 Metodologia geral para obtenção dos alcóxi-éteres (5a-g)

Esquema 33 - Esquema geral de obtenção dos alcóxi-éteres.

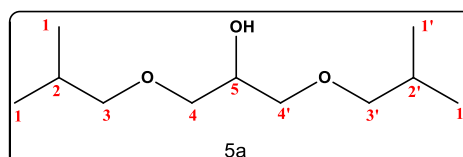


Em bécker de corpo longo, contendo o alcóxido requerido, adiciona-se gota a gota o DCP (2) preparado, numa razão estequiométrica de 2:1 (alcóxido/DCP). O sistema deve ser mantido resfriado durante a adição do DCP. A solução do sistema reacional torna-se turva com a adição da DCP.

O sistema deve ser mantido sob agitação mecânica constante, por 6 horas, em seguida a mistura é filtrada para remoção do sal formado no processo e o alcóxi-éter requerido é purificado por destilação a vácuo.

7.3.4 Dados Espectroscópicos dos Intermediários Alcóxi-éteres (5a-g) Preparados.

7.3.4.1 Alcóxi-éter BDIBP (5a)



Temperatura de destilação: 145-160° a 70 mmHg.

Aspecto físico: Líquido incolor

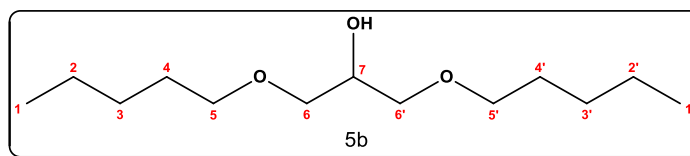
Rendimento: 65,5 %

Espectroscopia na região de Infravermelho (cm^{-1}): 3466 (ν OH), 2951, 2867 (ν C – H), 1466 (δ as C – H), 1109 (ν C – O), 1360 (δ s C – H isopropílico).

Espectroscopia de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz, δ ppm): δ 4.03 – 3.83 (m, 1H, H-5), 3.52 – 3.38 (d, 4H, H-4 e H-4'), 3.21 (d, 4H, H-3 e H-3'), 2.59 (s, 1H, O-H), 1.85 (m, 2H, H-2 e H-2'), 0.88 (d, 12H, H-1 e H-1').

Espectroscopia de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz, δ ppm): δ 77.66 (C-3 e C-3'), 71.25 (C-4 e C-4') 66.74 (C-5), 27.66 (C-2 e C-2'), 18.52 (C-1 e C-1').

7.3.4.2 Alcóxi-éter BDPP (5b)



Temperatura de destilação: 195-204° a 70 mmHg.

Aspecto físico: Líquido incolor

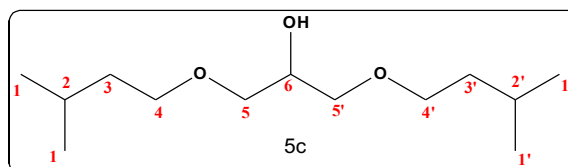
Rendimento: 83,2 %

Espectroscopia na região de Infravermelho (cm^{-1}): 3450 (ν OH), 2931, 2854 (ν C – H), 1468 (δ as C – H), 1120 (ν C – O).

Espectroscopia de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz, δ ppm): 4,4 (s, 1H, OH), 3,23-3,07 (t, 2H, H-5, H-5'), 1,17-0,90 (m, 12H, H-2,2', H-3,3', H-4,4'), 0,59-0,52 (t, 6H, H-1,1').

Espectroscopia de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz, δ ppm): 71,79 (C-6 e C-6'), 71,10 (C-5 e C-5') 69,35 (C-7), 31,46 (C-4 e C-4'), 19,06 (C-3 e C-3'), 18,89 (C-2 e C-2'), 13.60 (C-1 e C-1').

7.3.4.3 Alcóxi-éter (BDIPP) (5c).



Temperatura de destilação: 186-205° a 70 mmHg.

Aspecto físico: Líquido incolor

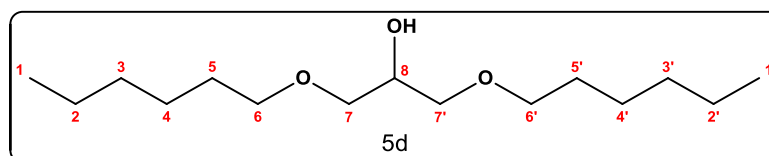
Rendimento: 88,4 %

Espectroscopia na região de Infravermelho (cm^{-1}): 3446 (ν OH), 2957, 2915, 2867 (ν C – H), 1466 (δ_{as} C – H), 1102 (ν C – O), 1360 (δ_{s} C – H isopropílico).

Espectroscopia de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz, δ ppm): δ 4.01 – 3.83 (p, 1H, H-6), 3.56 – 3.38 (m, 8H, H-5, H-5', H-4, H-4'), 2.37 (s, 1H, O-H), 1.79 - 1.55 (m, 2 H, H-3 e H-3'), 1.44 (q, 4H, H-2 e H-2'), 0.89 (d, 12H, H-1 e H-1').

Espectroscopia de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz, δ ppm): δ 71.19 (C-4 e C-4'), 69.27 (C-3 e C-3') 68.74 (C-6), 37.67 (C-2 e C-2'), 24.35 (C-3 e C-3'), 21.85 (C-1 e C-1').

7.3.4.4 Alcóxi-éter (BDHP) (5d).



Temperatura de destilação: 198-215° a 70 mmHg.

Aspecto físico: Líquido incolor

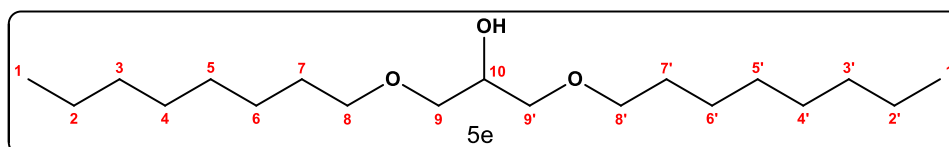
Rendimento: 77,6 %

Espectroscopia na região de Infravermelho (cm^{-1}): 3435 (ν OH), 2954, 2927, 2858 (ν C – H), 1463 (δ_{as} C – H), 1111 (ν C – O).

Espectroscopia de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz, δ ppm): 4,0 (s, 1H, OH), 3,98-3,87 (m, 1H, H-8), 3,47-3,38 (dd, 2H, H-7,7'), 3,36-3,28 (t, 2H, H-6,6'), 1,93-1,43 (m, 4H, H-5,5'), 1,37-1,25 (m, 12H, H-2,2', H-3,3', H-4,4'), 0,89-0,81 (t, 6H, H-1,1').

Espectroscopia de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz, δ ppm): 71,80 (C-7 e C-7'), 71,63 (C-6 e C-6'), 69,39 (C-8), 31,68 (C-5 e C-5'), 29,49 (C-4 e C-4'), 25,63 (C-3 e C-3'), 22,57 (C-2 e C-2'), 14,12 (C-1 e C-1').

7.3.4.5 Alcóxi-éter (BDOP) (5e).



Temperatura de destilação: 200-220° a 70 mmHg.

Aspecto físico: Líquido incolor

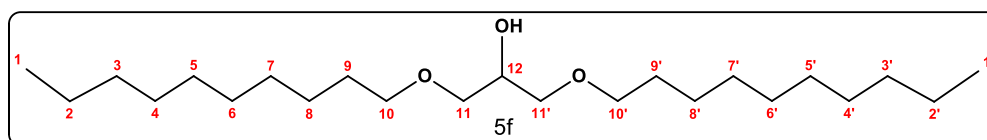
Rendimento: 60,8 %

Espectroscopia na região de Infravermelho (cm^{-1}): 3431 (ν OH), 2924, 2854 (ν C – H), 1465 (δ as C – H), 1112 (ν C – O).

Espectroscopia de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz, δ ppm): 4,27 – 4,01 (m, 1H, H-10), 3,53-3,44 (m, 2H, H-8,8', H-9,9'), 3,53-3,26 (m, 2H, H-7,7'), 1,61-1,44 (m, 4H, H-6,6'), 1,43-1,31 (m, 16H, H-2,2', H-3,3', H-4,4', H-5,5'), 0,88-0,86 (t, 6H, H-1,1').

Espectroscopia de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz, δ ppm): 72,80 (C-9 e C-9'), 71,82 (C-8 e C-8'), 70,67 (C-10), 31,73 (C-7 e C-7'), 29,72 (C-6 e C-6'), 29,25 (C-5 e C-5'), 29,04 (C-4 e C-4'), 26,38 (C-3 e C-3'), 23,16 (C-2 e C-2'), 14,05 (C-1 e C-1').

7.3.4.6 Alcóxi-éter (BDDP) (5f).



Temperatura de destilação: 200-220° a 70 mmHg.

Aspecto físico: Líquido incolor

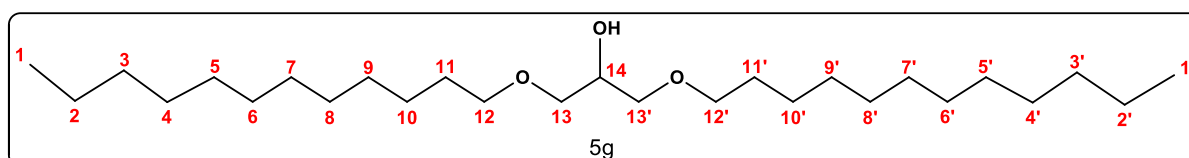
Rendimento: 60,8 %

Espectroscopia na região de Infravermelho (cm^{-1}): 3421 (ν OH), 2922, 2852 (ν C – H), 1465 (δ as C – H), 1114 (ν C – O).

Espectroscopia de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz, δ ppm): 4,28 – 4,04 (m, 1H, H-10), 3,46-3,33 (m, 2H, H-10,10', H-11,11'), 1,55-1,47 (m, 8H, H-8,8', H-9,9'), 1,30-1,26 (m, 24H, H-2,2', H-3,3', H-4,4', H-5,5', H-6,6', H-7,7'), 0,89-0,83 (t, 6H, H-1,1').

Espectroscopia de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz, δ ppm): 71,80 (C-11 e C-11'), 71,64 (C-10 e C-10'), 69,42 (C-12), 31,87 (C-9 e C-9'), 29,57 (C-8 e C-8'), 29,55 (C-7 e C-7'), 29,44 (C-6 e C-6'), 29,32 (C-5 e C-5'), 26,06 (C-4 e C-4'), 25,72 (C-3 e C-3'), 22,65 (C-2 e C-2'), 14,09 (C-1 e C-1').

7.3.4.7 Alcóxi-éter (BDDDP) (5g).



Temperatura de destilação: 205-230° a 70 mmHg.

Aspecto físico: Líquido incolor

Rendimento: 54,7 %

Espectroscopia na região de Infravermelho (cm⁻¹): 3421 (ν OH), 2922, 2852 (ν C – H), 1465 (δas C – H), 1114 (ν C – O).

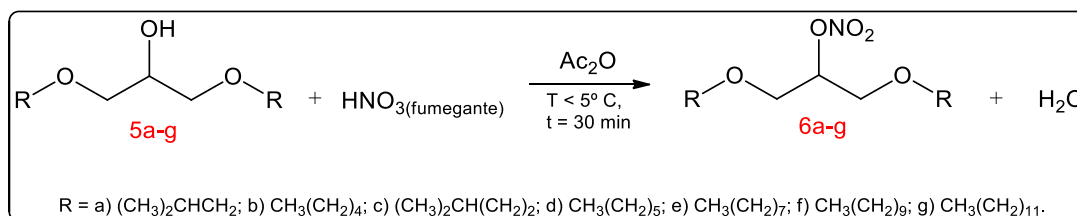
Espectroscopia de RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm): 4,21 – 4,09 (m, 1H, H-14), 3,48-3,25 (m, 8H, H-12,12', H-13,13'), 1,55-1,47 (m, 8H, H-9,9', H-10,10', H-11,11'), 1,30-1,26 (m, 24H, H-2,2', H-3,3', H-4,4', H-5,5', H-6,6', H-7,7', H-8,8'), 0,90-0,84 (t, 6H, H-1,1').

Espectroscopia de RMN ¹³C (CDCl₃, 50 MHz, δ ppm): 71,82 (C-13 e C-13'), 71,65 (C-12 e C-12'), 69,33 (C-14), 32,82 (C-11 e C-11'), 31,90 (C-10 e C-10'), 29,65 (C-9 e C-9'), 29,62 (C-8 e C-8'), 29,46 (C-7 e C-7'), 29,42 (C-6 e C-6'), 29,33 (C-5 e C-5'), 26,03 (C-4 e C-4'), 25,70 (C-3 e C-3'), 22,67 (C-2 e C-2'), 14,04 (C-1 e C-1').

7.4 METODOLOGIA GERAL PARA SÍNTESE DOS NITRATOS DERIVADOS DA GLICERINA (6a-g)

Os nitratos derivados da glicerina e do óleo fúsel foram obtidos reação de nitração direta, utilizando ácido nítrico, conforme o esquema 33.

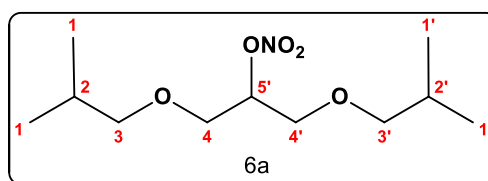
Esquema 34 - Esquema geral de obtenção dos nitratos derivados da glicerina.



Para obtenção dos nitratos requeridos (6a-g), utilizou-se um balão de 100mL de fundo redondo onde foi acrescido uma alíquota de 0,5mol do álcoxi-éter (5a-g) correspondente e 0,6 mol de anidrido acético. O sistema foi colocado em banho de gelo com salmoura para controle de temperatura. Em seguida acrescentou-se ácido nítrico fumegante lentamente (pois a reação é extremamente exotérmica). Após a adição completa do ácido nítrico, o sistema foi mantido sob agitação constante por 30 minutos e a temperatura foi controlada abaixo de 5 °C. A

reação foi interrompida com 100mL de água destilada gelada e imediatamente neutralizada com bicarbonato de sódio. Ocorre formação de duas fases no sistema. A mistura foi transferida para funil de separação. A fase aquosa foi separada da fase orgânica. Utilizou-se diclorometano para extração dos compostos (6a-g) da fase orgânica e sulfato de sódio anidro para secagem. A mistura foi filtrada e o diclorometano foi posteriormente retirado por rotaevaporação. A pureza foi verificada em placa cromatográfica (eluente hexano/acetato de etila 9/1).

7.4.1 Nitrato NDIBP (6a)



Aspecto físico: Líquido amarelado, pouco viscoso

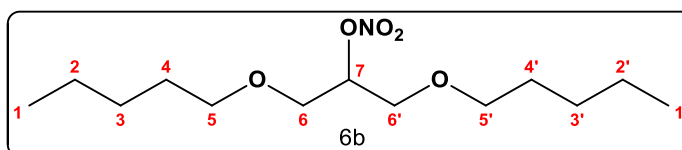
Rendimento: 85,7 %

Espectroscopia na região de Infravermelho (ATR, cm^{-1}): 2958 (ν_{as} C – H metílico), 1639 (ν_{as} N=O), 1462 (δ_{s} C – H metílico), 1276 (ν_{s} N – O), 1118 (ν_{as} C – O), 852 (ν N = O).

Espectroscopia de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz, δ ppm): 4,12 – 3,89 (m, 1H, H-5), 3,56-3,48 (dd, 4H, H-4,4'), 3,29-3,22 (d, 4H, H-3,3'), 1,78-1,33 (m, 2H, H-2,2'), 0,98-0,92 (d, 12H, H-1,1').

Espectroscopia de RMN ^{13}C (APT, CDCl_3 , 50 MHz, δ ppm): 81,23 (C-5), 70,23 (C-4,4'), 69,95 (C-3,3'), 24,94 (C-2,2'), 22,51 (C-1,1').

7.4.2 Nitrato (NDPP) (6b)



Aspecto físico: Líquido amarelado, pouco viscoso

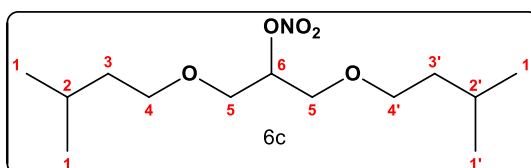
Rendimento: 96,2 %

Espectroscopia na região de Infravermelho (ATR, cm^{-1}): 2956, 2931, 2870 ($\nu_{\text{as}} \text{Csp}^3 - \text{H}$), 1633 ($\nu_{\text{as}} \text{N}=\text{O}$), 1273 ($\nu_{\text{s}} \text{N} - \text{O}$), 1116 ($\nu_{\text{as}} \text{C} - \text{O}$), 848 ($\nu \text{N} = \text{O}$).

Espectroscopia de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz, δ ppm): 5,33 – 5,23 (m, 1H, H-7), 3,61-3,59 (d, 4H, H-6,6'), 3,45 – 3,32 (m, 4H, H-5,5'), 1,63 – 1,45 (m, 12H, H-2,2', H-3,3', H-4,4'), 0,90-0,83 (t, 6H, H-1,1').

Espectroscopia de RMN ^{13}C (APT, CDCl_3 , 50 MHz, δ ppm): 81,31 (C-7); 71,76 (C-5, C-5'); 68,27 (C-6, C-6'); 29,97 (C-4, C-4'); 22,76 (C-3, C-3'); 22,69 (C-2, C-2'); 10,38 (C-1, C-1').

7.4.3 Nitrato (NDIPP) (6c)



Aspecto físico: Líquido amarelado, pouco viscoso

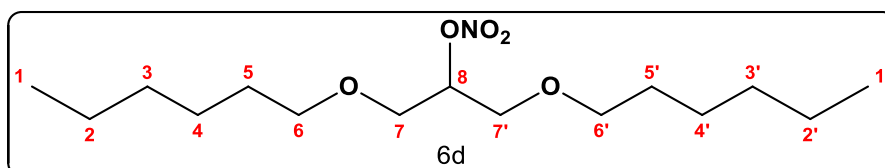
Rendimento: 83,4 %

Espectroscopia na região de Infravermelho (ATR, cm^{-1}): 2956, 2927, 2870 ($\nu_{\text{as}} \text{Csp}^3 - \text{H}$), 1635 ($\nu_{\text{as}} \text{N}=\text{O}$), 1465 ($\delta_{\text{s}} \text{C} - \text{H}$ metílico), 1274 ($\nu_{\text{s}} \text{N} - \text{O}$), 1112 ($\nu_{\text{as}} \text{C} - \text{O}$), 852 ($\nu \text{N} = \text{O}$).

Espectroscopia de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz, δ ppm): 5,34-5,23 (m, 1H, H-6,6'), 3,63-3,60 (d, 4H, H-5,5'), 3,51-3,42 (m, 4H, H-4,4'), 1,72-1,59 (m, 1H, H-2,2'), 1,51-1,38 (m, 4H, H-3,3'), 0,90-0,86 (d, 12H, H-1,1').

Espectroscopia de RMN ^{13}C (APT, CDCl_3 , 50 MHz, δ ppm): 81,23 (C-6); 71,81 (C-5, C-5'); 68,08 (C-4, C-4'); 38,35 (C-3, C-3'); 24,98 (C-2, C-2'); 22,74 (C-1, C-1').

7.4.4 Nitrato (NDHP) (6d)



Aspecto físico: Líquido amarelado, pouco viscoso

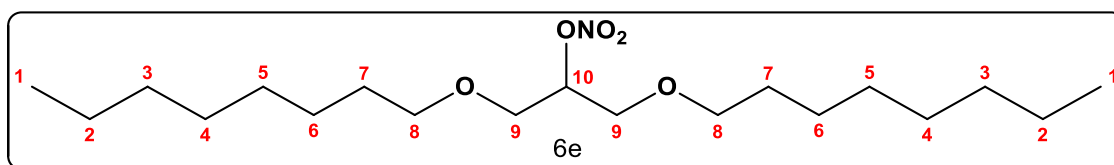
Rendimento: 87,3 %

Espectroscopia na região de Infravermelho (ATR, cm^{-1}): 2929, 2858 (ν_{as} $\text{Csp}^3 - \text{H}$), 1633 (ν_{as} $\text{N}=\text{O}$), 1271 (ν_{s} $\text{N} - \text{O}$), 1114 (ν_{as} $\text{C} - \text{O}$), 850 (ν $\text{N} = \text{O}$).

Espectroscopia de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz, δ ppm): δ 5,35 – 5,25 (m, 1H, H-8), 3,64-3,62 (d, 4H, H-7,7'), 3,48-3,41 (m, 4H, H-6,6'), 1,64-1,49 (m, 4H, H-5,5'), 1,28 (s, 12H, H-2,2', H-3,3', H-4,4'), 0,88-0,85 (t, 6H, H-1,1').

Espectroscopia de RMN ^{13}C (APT, CDCl_3 , 50 MHz, δ ppm): 81,22 (C-8); 71,82 (C-6, C-6'); 67,94 (C-7, C-7'); 31,55 (C-3, C-3'); 29,40 (C-5, C-5'); 25,60 (C-4, C-4'); 22,55 (C-2, C-2'); 13,97 (C-1, C-1').

7.4.5 Nitrato (NDOP) (6e)



Aspecto físico: Líquido amarelado, pouco viscoso

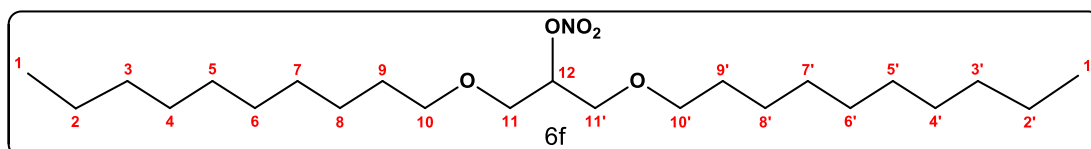
Rendimento: 73,1 %

Espectroscopia na região de Infravermelho (ATR, cm^{-1}): 2926, 2856 (ν_{as} $\text{Csp}^3 - \text{H}$), 1635 (ν_{as} $\text{N} = \text{O}$), 1462 (δ_{s} $\text{C} - \text{H}$ metílico), 1273 (ν_{s} $\text{N} - \text{O}$), 1116 (ν_{as} $\text{C} - \text{O}$), 848 (ν $\text{N} = \text{O}$).

Espectroscopia de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz, δ ppm): 5,35 – 5,25 (m, 1H, H-10); 3,64-3,61 (d, 4H, H-9,9'); 3,48-3,40 (m, 4H, H-8,8'); 1,57-1,51 (m, 4H, H-7,7'), 1,27 (s, 24H, H-2,2', H-3,3', H-4,4', H-5,5', H-6,6'), 0,90-0,88 (t, 6H, H-1,1').

Espectroscopia de RMN ^{13}C (APT, CDCl_3 , 50 MHz, δ ppm): 81,44 (C-10), 71,81 (C-8, C-8'), 67,98 (C-9, C-9'), 31,81 (C-3, C-3'), 29,35 (C-7, C-7'), 29,25 (C-6, C-6'), 26,08 (C-5, C-5'), 25,96 (C-4, C-4'), 22,64 (C-2, C-2'), 14,09 (C-1, C-1').

7.4.6 Nitrato (NDDP) (6f)



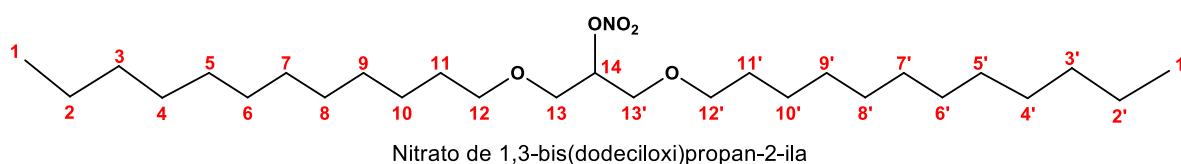
Aspecto físico: Líquido amarelado, viscoso

Rendimento: 70,6 %

Espectroscopia na região de Infravermelho (ATR, cm^{-1}): 2924, 2854 (ν_{as} $\text{Csp}^3 - \text{H}$), 1631 (ν_{as} $\text{N}=\text{O}$), 1467 (δ_{s} $\text{C} - \text{H}$ metílico), 1276 (ν_{s} $\text{N} - \text{O}$), 1118 (ν_{as} $\text{C} - \text{O}$), 850 (ν $\text{N} = \text{O}$).

Espectroscopia de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz, δ ppm): 5,31 – 5,26 (m, 1H, H-12); 3,63-3,61 (d, 4H, H-11,11'); 3,47-3,41 (m, 4H, H-10,10'); 1,70-1,56 (m, 4H, H-9,9'), 1,25 (s, 28H, H-2,2', H-3,3', H-4,4', H-5,5', H-6,6', H-7,7', H-8,8'), 0,89-0,83 (t, 6H, H-1,1').

7.4.7 Nitrato (NDDDP) (6g)



Aspecto físico: Líquido amarelado, viscoso

Rendimento: 67,7 %

Espectroscopia na região de Infravermelho (ATR, cm^{-1}): 2922, 2852 (ν_{as} $\text{Csp}^3 - \text{H}$), 1633 (ν_{as} $\text{N}=\text{O}$), 1465 (δ_{s} $\text{C} - \text{H}$ metílico), 1276 (ν_{s} $\text{N} - \text{O}$), 1116 (ν_{as} $\text{C} - \text{O}$), 852 (ν $\text{N} = \text{O}$).

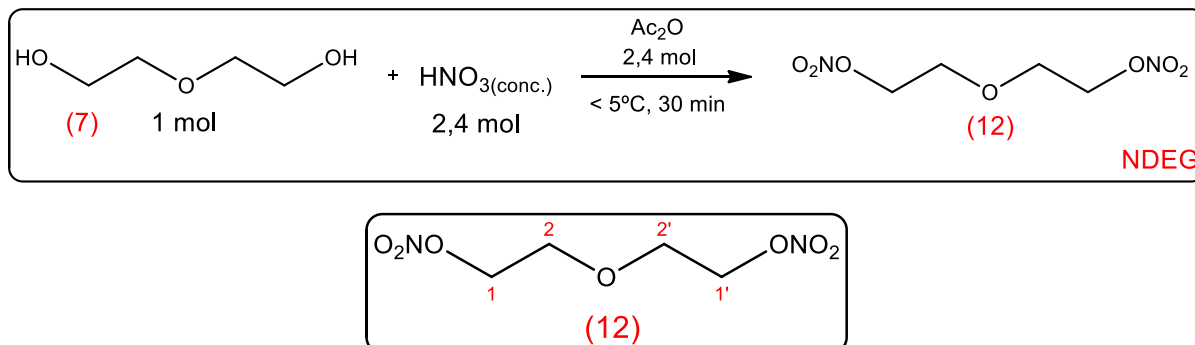
Espectroscopia de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz, δ ppm): 5,34 – 5,20 (m, 1H, H-14); 3,66-3,60 (m, 4H, H-13,13'); 3,50-3,42 (m, 4H, H-12,12'); 1,74-1,45 (m, 4H, H-11,11'), 1,25 (s, 36H, H-2,2', H-3,3', H-4,4', H-5,5', H-6,6', H-7,7', H-8,8', H-9,9', H-10,10'), 0,90-0,84 (t, 6H, H-1,1').

7.5 METODOLOGIAS DE SÍNTESE DOS COMPOSTOS DERIVADOS DO DIETILENOGLICOL

O dietilenoglicol também foi utilizado na síntese de nitratos alquílicos por tratar-se de uma molécula com pequena cadeia carbônica, porém com elevado teor de oxigênio. Foram sintetizados dois nitratos derivados do dietilenoglicol, o primeiro por nitração direta, conforme metodologia descrita no item 7.4 e o segundo após conversão da molécula em um tetra-álcool.

7.5.1 Nitrato (NDEG) (12)

Esquema 35 - Metodologia de obtenção do dinitrato de oxibis-etano-1,2-diila (12).



Aspecto físico: Líquido amarelado, pouco viscoso

Rendimento: 94 %

Espectroscopia na região de Infravermelho (ATR, cm^{-1}): 2966, 2893 ($\nu_{\text{as}} \text{Csp}^3 - \text{H}$), 1620 ($\nu_{\text{as}} \text{N}=\text{O}$), 1273 ($\nu_{\text{s}} \text{N} - \text{O}$), 1132 ($\nu_{\text{as}} \text{C} - \text{O}$), 846 ($\nu \text{N} = \text{O}$).

Espectroscopia de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz, δ ppm): 4,62 – 4,58 (m, 4H, H-1,1'); 3,79 – 3,74 (m, 4H, H-2,2').

Espectroscopia de RMN ^{13}C (APT, CDCl_3 , 50 MHz, δ ppm): 71,71 (C-1,C-1'), 68,03 (C-2,C-2').

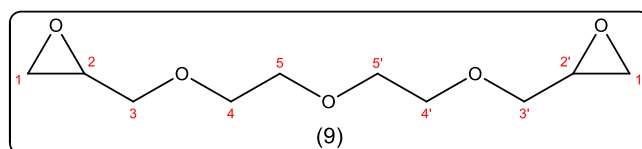
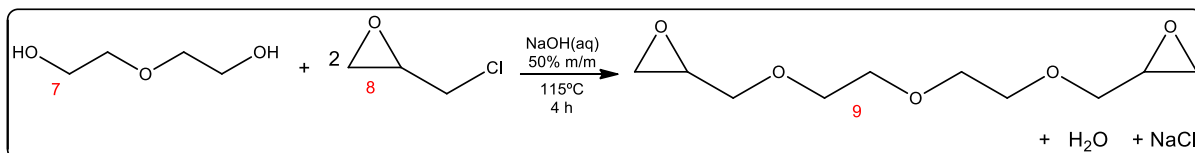
7.5.2 Nitrato (TNDEG) (11)

Para aumentar o número de grupos nitrato na molécula, preparou-se um tetranitrato derivado do dietilenoglicol. A molécula foi obtida após três etapas de reação.

Para a realização da primeira etapa (Esquema 7.6) utilizou-se um balão de fundo redondo de três bocas ao qual foi adicionado 0,05 mol de dietilenoglicol e 0,5 mol de epícloridrina. Ao balão foram acoplados um termômetro, funil de adição e tubo de Dean-Stark conectado ao condensador. O sistema foi aquecido a 115°C e mantido sob agitação magnética constante (1200 rpm). Foi adicionado, gota a gota, 8,1g de solução aquosa 50% de hidróxido de sódio. O sistema ficou em refluxo por 4 horas, até que o excesso de epícloridrina e a água formada na reação fossem totalmente evaporadas e coletadas no tubo de Dean-Stark. Ao final da reação, o

produto orgânico foi solubilizado em acetona e separado do sal formado por filtração a vácuo. Em seguida a acetona foi rotaevaporada.

Esquema 36 - Metodologia de obtenção do intermediário epóxido (9)



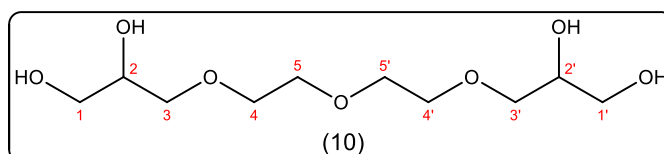
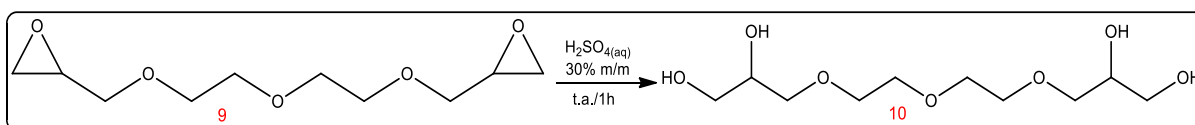
Aspecto físico: Líquido incolor, pouco viscoso

Rendimento: 62 %

Espectroscopia na região de Infravermelho (ATR, cm^{-1}): 2872 (ν_{as} Csp³ – H), 1249 (ν_{as} C – O epóxido), 1066 (ν_{as} C – O éter alifático).

A segunda etapa de reação (Esquema 7.7) foi realizada utilizando uma solução prepara com 0,04mol do epóxido (9) obtido na etapa 1 em 11mL de água destilada a temperatura ambiente (27°C). Adicionou-se 1mL de solução aquosa de ácido sulfúrico a 30%, gota a gota. O sistema foi submetido à agitação magnética sem aquecimento por 1 hora. Em seguida foram acrescentados 0,4g de hidróxido de cálcio para neutralização. A mistura reacional foi filtrada a vácuo para eliminação do sal formado e em seguida o material foi rotaevaporado para retirada da água.

Esquema 37 - Metodologia de obtenção do intermediário tetra-álcool (10)



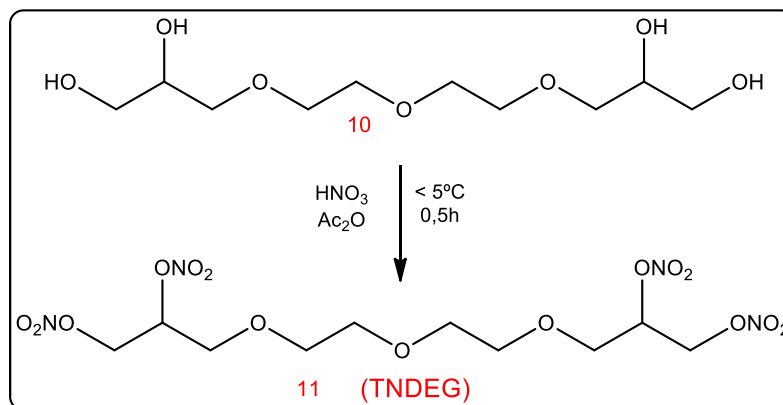
Aspecto físico: Líquido incolor, muito viscoso

Rendimento: 75 %

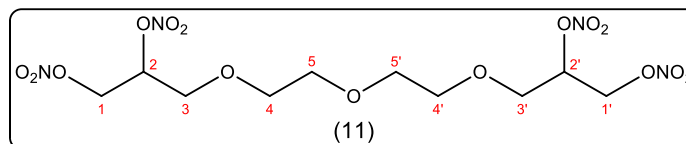
Espectroscopia na região de Infravermelho (ATR, cm^{-1}): 3373 (ν OH), 2872 (ν_{as} $\text{Csp}^3 - \text{H}$), 1078 (ν_{as} $\text{C} - \text{O}$ éter alifático).

A preparação do tetranitrato (Esquema 7.8), seguiu o procedimento descrito no item 7.4. Utilizou-se um balão de 100mL contendo 0,048mol de anidrido acético, ao qual adicionou-se 0,048mol de ácido nítrico fumegante. O sistema é mantido sob agitação constante e em banho de gelo, com temperatura controlada entre -10°C e 5°C . Em seguida, 0,01mol de (10), foram solubilizados em anidrido acético e adicionados ao sistema reacional lentamente. Após a adição o material fica sob agitação a temperatura controlada por 30 minutos. Ao final são acrescidos 50mL de água destilada gelada (5°C). Em seguida o material foi neutralizado com solução aquosa saturada de NaHCO_3 e o produto foi extraído com éter etílico. O solvente foi rotaevaporado.

Esquema 38 - Metodologia de obtenção do nitrato TNDEG (11)



Os procedimentos apresentados para a obtenção do TNDEG tiveram por base a descrição do processo da patente **WO 2011/029548 A1** que reivindica a aplicação do Tetranitrato de isosorbide (TNIS) e qualquer um de seus derivados como aditivo melhorador de cetano, no entanto, não reivindica a metodologia de síntese.



Aspecto físico: Líquido amarelado oleoso

Rendimento: 66 %

Espectroscopia na região de Infravermelho (ATR, cm^{-1}): 2910, 2875 (ν_{as} $\text{Csp}^3 - \text{H}$), 1627 (ν_{as} $\text{N}=\text{O}$), 1269 (ν_{s} $\text{N} - \text{O}$), 1111 (ν_{as} $\text{C} - \text{O}$), 839 (ν $\text{N} = \text{O}$).

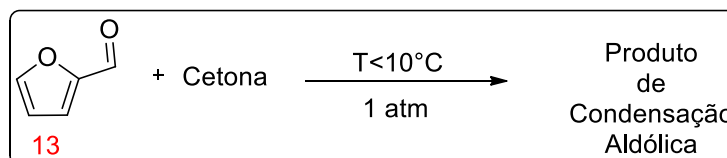
Espectroscopia de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz, δ ppm): 4,90 – 4,61 (m, 2H, H-2,2'); 3,93-3,90 (d, 4H, H-1,1'); 3,83 – 3,70 (m, 8H, H-4,4', H-5,5'); 3,66-3,64 (d, 4H, H-3,3').

7.6 METODOLOGIAS DE SÍNTESE DOS COMPOSTOS DERIVADOS DO FURFURAL

7.6.1 Preparação da Chalcona

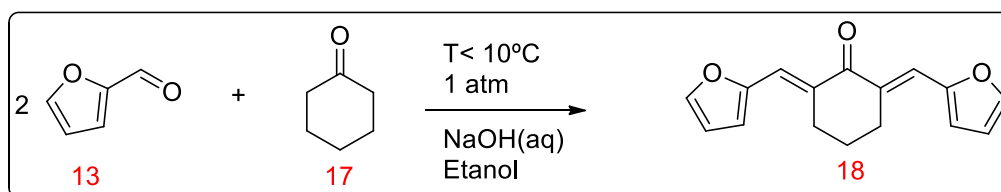
Utilizando o furfural como material de partida, foram adotadas metodologias para síntese de chalconas, via condensação aldólica.

Esquema 39 - Metodologia geral para obtenção de chalconas derivadas do furfural.

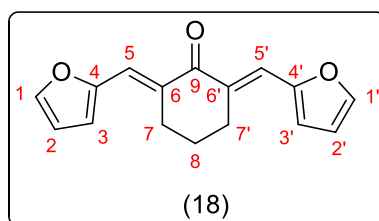


7.6.1.1 Chalcona (18)

Esquema 40 - Metodologia para obtenção de chalconas dicondensada derivada do furfural-cicloexanona.



Em um erlenmeyer foi adicionado 50 mL de água e 100mL de etanol, sob agitação magnética. Em seguida adicionou-se 4ml de furfural (0,048mol), e a mistura foi colocada em banho de gelo até atingir 0°C, para adição de 2,5ml de ciclohexanona (0,024mol) e 50 ml de NaOH 1M. A reação foi mantida sob agitação durante 12h a temperatura ambiente. Foi obtido um precipitado amarelo que foi filtrado a vácuo e purificado por recristalização em etanol.



Aspecto físico: sólido amarelo

Ponto de fusão: 208 °C a 1 atm

Rendimento: 86 %

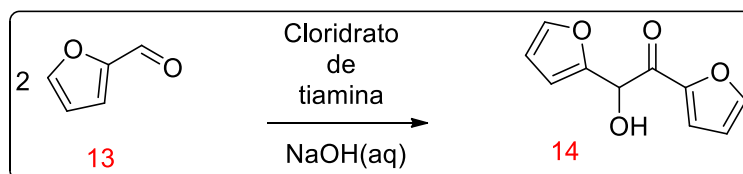
Espectroscopia na região de Infravermelho (KBr, cm^{-1}): (ν C-H ar.) 2957, (ν C – H alif.) 3146, (ν C=O) 1598, (ν C=Car.) 1551, 1484, (δ as C – H) 1439, (ν C-O) 1291.

Espectroscopia de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz, δ ppm): 7,55 (s, 2H, H-5,5'), 6,67-6,65 (dd, $J = 3.4$ Hz, 2H, H-1,1', H-3,3'), 6,52 (t, $J = 1.7$ Hz, 2H, H-2,2'), 3,03-2,97 (t, 4H, H-7-7'), 1,94-1,85 (q, 2H, H-8).

Espectroscopia de RMN ^{13}C (APT, CDCl_3 , 50 MHz, δ ppm): 189,18 (C-9), 152,86 (C-4); 144,63 (C-1), 133,99 (C-6), 123,53 (C-2), 116,23 (C-3), 112,44 (C-5), 28,06 (C-7), 21,75 (C-8).

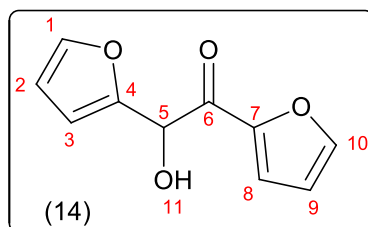
7.6.2 Preparação da Furoína (14)

Esquema 41 - Metodologia para obtenção da furoína (14).



Para obtenção da furoína foi utilizada a metodologia sugerida por Pavia et al. (1988).

Em um erlenmayer foi dissolvido 1,5g de cloridrato de tiamina em 2mL de água. Sob agitação adicionou-se 15mL de etanol, e 4,5mL de solução de NaOH 8%, a solução adquiriu uma coloração amarelada, em seguida é feita a adição de 3,75mL de furfural. A solução permanece sob agitação por 30 min e é deixada em repouso para formação dos cristais. O sólido é filtrado a vácuo e recristalizado em etanol.



Aspecto físico: sólido amarelado

Ponto de fusão: 135 °C a 1 atm

Rendimento: 93 %

Espectroscopia na região de Infravermelho (cm⁻¹): (ν OH) 3441, (ν C – H alif.) 3140, (ν C-H ar.) 3093, (ν C=O) 1667, (ν C=Car.) 1558, 1456, (δas C – H) 1456, (νδ C-O) 1247.

Espectroscopia de RMN ¹H (CDCl₃, DMSO, 200 MHz, δ ppm): 7,55 (s, 2H, H-5,5'), 6,67-6,65 (dd, *J* = 3.4 Hz, 2H, H-1,1', H-3,3'), 6,52 (t, *J* = 1.7 Hz, 2H, H-2,2'), 3,03-2,97 (t, 4H, H-7-7'), 1,94-1,85 (q, 2H, H-8).

Espectroscopia de RMN ¹³C (APT, DMSO, 50 MHz, δ ppm): 185,19 (C-6), 152,47 (C-7), 146,73 (C-4); 143,29 (C-10), 142,25 (C-1), 120,44 (C-8), 112,67 (C-9), 110,84 (C-2), 106,79 (C-3), 69,52 (C-5).

7.6.3 Redução da Chalcona (18) e da Furoína (14)

Para reações de hidrogenação das chalconas foi desenvolvida metodologia baseada em estudos realizados por Nakagawa; Tomishige (2010) e Zhang et al. (2013).

Para as reações, foi utilizado o catalisador de paládio suportado em carvão ativado, da Sigma-Aldrich, numa proporção de 5% em massa. Inicialmente, o catalisador passou por um processo de tratamento para ativação. Primeiro, foi colado numa estufa a 105 °C durante 12h, para secagem. Em seguida, foi pesado e

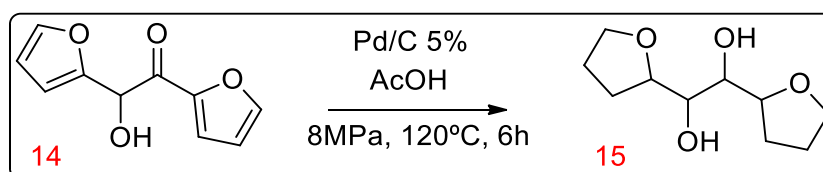
colocado no reator para o processo de redução. A redução do catalisador, com duração de 1h, ocorreu após o reator atingir a temperatura de 200°C, com taxa de aquecimento de 2°C.min⁻¹. O processo ocorreu sob fluxo constante de 30mL.min⁻¹ do gás hidrogênio ultrapuro. O catalisador ativado foi utilizado logo em seguida para minimizar a sua oxidação.

As reações de hidrogenação foram realizadas num sistema em batelada, no Reator Parr (300 mL) modelo 4561, acoplado a cilindro de gás hidrogênio ultrapuro (grau de pureza 99,999% - *White Martins*®), por válvula de alta pressão, montada para estes procedimentos.

Os parâmetros pressão de gás injetado, temperatura, tempo reacional e solvente variaram de acordo com a característica da molécula a ser reduzida.

7.6.3.1 Preparação (bis-THF) (15)

Esquema 42 - Metodologia para obtenção do bis-THF (15).

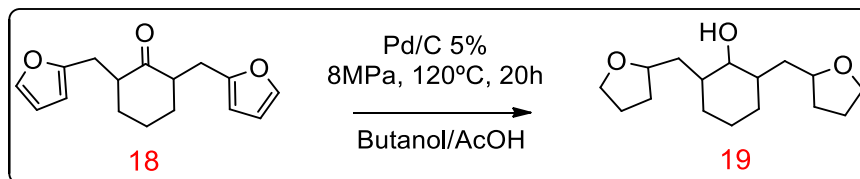


Para obtenção do bis-THF foi desenvolvida metodologia baseada em estudos realizados por Nakagawa e Tomishige (2010).

Preparou-se 200mL de solução aquosa 0,5 molar do substrato (furoína), ao qual foi adicionado 2mmol de ácido acético e 0,38mmol de Pd (0,8g cat. Pd/C 5%). A mistura reacional foi transferida para o reator. O sistema foi submetido a fluxo contínuo de gás hidrogênio, a temperatura ambiente, por 5 minutos. Em seguida as válvulas de saída foram fechadas e injetou-se gás hidrogênio até atingir pressão de 8MPa (80 Bar). O sistema foi aquecido a 120°C numa taxa de aquecimento igual de 5 °C.min⁻¹. O sistema foi mantido sob agitação constante de 700 rpm durante o tempo total de reação (6h).

7.6.3.2 Preparação do (RFCHD) (19)

Esquema 43 - Metodologia para obtenção do RFCHD (19).



Preparou-se 200mL de uma solução com 0,1 mol do substrato, ao qual foi adicionado 2mmol de ácido acético e 0,38mmol de Pd (0,8g cat. Pd/C 5%). A mistura reacional foi transferida para o reator. O sistema foi submetido a fluxo contínuo de gás hidrogênio, a temperatura ambiente, por 5 minutos. Em seguida as válvulas de saída foram fechadas e injetou-se gás hidrogênio até atingir pressão de 8Mpa (80 Bar). O sistema foi aquecido a 120°C numa taxa de aquecimento igual a 5 °C.min⁻¹. O sistema foi mantido sob agitação constante de 700 rpm durante o tempo total de reação (20h).

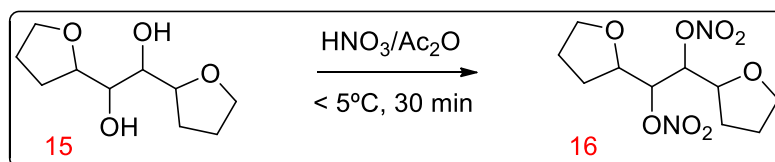
7.6.4 Obtenção de Nitratos Derivados do Furfural

Os nitratos derivados das chalconas foram obtidos após a conversão total da chalcona em um álcool saturado em processo já apresentado, seguida de reação de nitração direta, utilizando ácido nítrico.

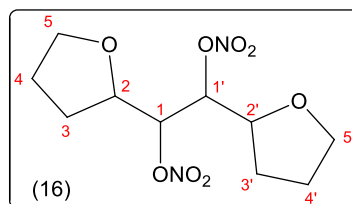
As reações de nitração seguem a metodologia padrão já apresentada no item 7.4.

7.6.4.1 Preparação do (bis-NTHF) (16)

Esquema 44 - Metodologia para obtenção do bis-NTHF (16).



Em um balão contendo 0,24mol de anidrido acético, adicionou-se 0,24 mol de ácido nítrico fumegante e, em seguida, 0,1mol de 1,2-bis(tetrahydrofuran-2-il)etano-1,2-diol (15), seguindo a metodologia geral descrita no item 7.4.



Aspecto físico: líquido amarelado, pouco viscoso

Rendimento: 66,3 %

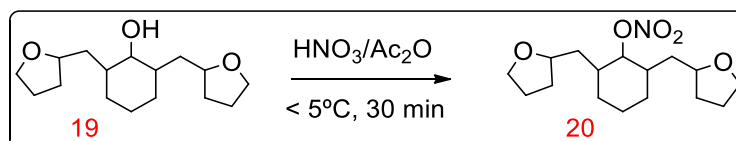
Espectroscopia na região de Infravermelho (ATR, cm^{-1}): 2933, 2860 (ν_{as} $\text{Csp}^3 - \text{H}$), 1627 (ν_{as} $\text{N}=\text{O}$), 1278 (ν_{s} $\text{N} - \text{O}$), 1060 (ν_{as} $\text{C} - \text{O}$), 862 (ν $\text{N} = \text{O}$).

Espectroscopia de RMN ^1H (CDCl_3 , CDCl_3 , 200 MHz, δ ppm): 3,90-3,53 (m, 8H, H-1,1', H-2,2', H-5,5'), 2,04-1,57(m, 8H, H-4,4', H-3,3').

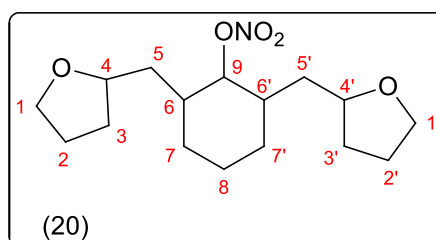
Espectroscopia de RMN ^{13}C (APT, CDCl_3 , 50 MHz, δ ppm): 81,31 (C-1,1'); 79,64 (C-2,2'); 69,47 (C-5,5'); 29,80 (C-3,3'), 25,01 (C-4,4').

7.6.4.2 Preparação do nitrato (NFCHD) (20)

Esquema 45 - Metodologia para obtenção do NFCHD (20).



Em um balão contendo 0,24mol de anidrido acético, adicionou-se 0,24 mol de ácido nítrico fumegante e, em seguida, 0,2mol de 2,6-bis((tetrahydrofuran-2-il)metil)ciclohexila, seguindo a metodologia geral descrita no item 7.4.



Aspecto físico: líquido amarelado, pouco viscoso

Rendimento: 85 %

Espectroscopia na região de Infravermelho (ATR, cm^{-1}): 2931, 2858 (ν_{as} $\text{Csp}^3 - \text{H}$), 1629 (ν_{as} $\text{N}=\text{O}$), 1278 (ν_{s} $\text{N} - \text{O}$), 1058 (ν_{as} $\text{C} - \text{O}$), 864 (ν $\text{N} = \text{O}$).

Espectroscopia de RMN ^1H (CDCl_3 , CDCl_3 , 200 MHz, δ ppm): 3,74-3,57 (m, 6H, H-1,1', H-4,4'); 2,54-2,45 (t, 1H, H-9); 2,01-1,05 (m, 22H, H-2,2', H-3,3', H-5,5', H-6,6', H-7,7', H-8,8').

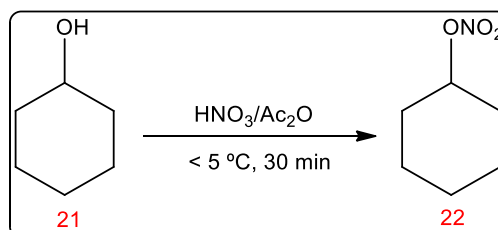
Espectroscopia de RMN ^{13}C (APT, CDCl_3 , 50 MHz, δ ppm): 86,73 (C-9); 79,52 (C-4,4'); 67,45 (C-1,1'); 39,26 (C-5,5'); 36,04 (C-6,6'); 31,91 (C-3,3'); 28,62 (C-7,7'), 25,60 (C-4,4'); 21,11 (C-8).

7.7 SÍNTESE DOS COMPOSTOS DERIVADOS DO CICLOHEXANOL E BUTANO-1,4-DIOL

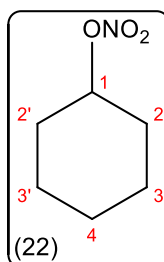
Foram sintetizados outros nitratos alquílicos com variação no tipo de cadeia carbônica.

7.7.1 Nitrato (NCH) (22)

Esquema 46 - Preparação do Nitrato do ciclohexanol (22)



Em um balão contendo 0,24mol de anidrido acético, adicionou-se 0,24 mol de ácido nítrico fumegante e, em seguida, 0,2mol de ciclohexanol, seguindo a metodologia geral descrita no item 7.4.



Aspecto físico: líquido amarelado, pouco viscoso

Rendimento: 95 %

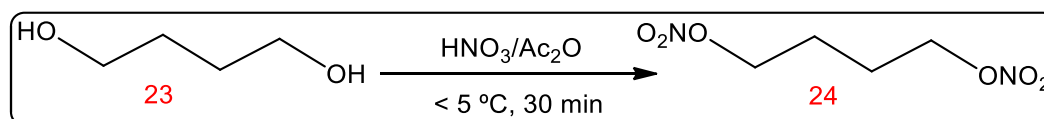
Espectroscopia na região de Infravermelho (ATR, cm^{-1}): 2939, 2862 (ν_{as} $\text{Csp}^3 - \text{H}$), 1618 (ν_{as} $\text{N}=\text{O}$), 1271 (ν_{s} $\text{N} - \text{O}$), 864 (ν $\text{N} = \text{O}$).

Espectroscopia de RMN ^1H (CDCl_3 , CDCl_3 , 200 MHz, δ ppm): 4,92-4,79 (m, 1H, H-1); 1,88-1,18 (m, 10H, H-2,2', H-3,3', H-4,4').

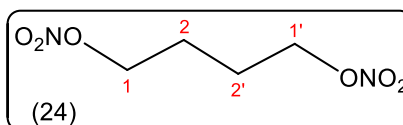
Espectroscopia de RMN ^{13}C (APT, CDCl_3 , 50 MHz, δ ppm): 82,24 (C-1); 29,60 (C-2,2'); 24,93 (C-3,3'); 23,36 (C-4,4').

7.7.2 Nitrato (NBD) (24)

Esquema 47 - Preparação do Nitrato do butanodiol



Em um balão contendo 0,24mol de anidrido acético, adicionou-se 0,24 mol de ácido nítrico fumegante e, em seguida, 0,1mol de butano-1,4-diol, seguindo a metodologia geral descrita no item 7.4.



Aspecto físico: líquido amarelado, pouco viscoso

Rendimento: 94 %

Espectroscopia na região de Infravermelho (ATR, cm^{-1}): 2968, 2883 (ν_{as} $\text{Csp}^3 - \text{H}$), 1618 (ν_{as} $\text{N}=\text{O}$), 1273 (ν_{s} $\text{N} - \text{O}$), 864 (ν $\text{N} = \text{O}$).

Espectroscopia de RMN ^1H (CDCl_3 , CDCl_3 , 200 MHz, δ ppm): 4,51-4,45 (m, 4H, H-1,1'); 1,89-1,84 (m, 4H, H-2,2').

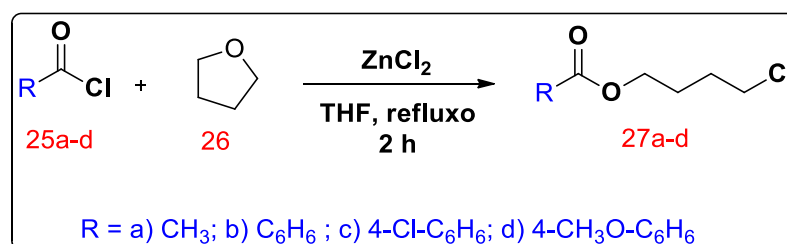
Espectroscopia de RMN ^{13}C (APT, CDCl_3 , 50 MHz, δ ppm): 73,38 (C-1,1'); 25,60 (C-2,2').

7.8 SÍNTESE DOS NITRATOS-ÉSTERES

7.7.1 Síntese dos Cloretos Intermediários

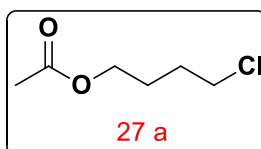
Para a obtenção dos nitratos-ésteres planejados foi necessário a preparação de cloretos intermediários, com átomo de cloro em condição ótima para ser substituído pelo grupo nitrato em reação. Os intermediários foram sintetizados conforme metodologia descrita por Enthaler e Weidauer (2012).

Esquema 48 - Metodologia geral para preparação dos cloretos



Em um balão de 50 mL, foi adicionado ZnCl_2 (1 mol %) em uma solução contendo o cloreto correspondente (25a-d) (37 mmol) em 15 mL de THF. A mistura foi refluxada em um banho de óleo durante 2 horas. Em seguida, a mistura foi esfriada e o solvente foi evaporado e o resíduo foi dissolvido em diclorometano (20 mL), lavado com uma solução de 10% NaHCO_3 , uma solução de brine e seca com sulfato de sódio. O solvente foi removido à pressão reduzida para a obtenção do cloreto.

7.7.1.1 Preparação do acetato de 4-clorobutila (27a)

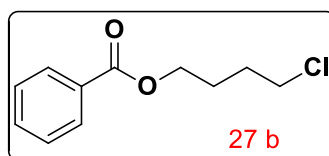


Aspecto físico: líquido amarelado, pouco viscoso

Rendimento: 80 %

Espectroscopia de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz, δ ppm): 4,10-4,01 (t, 2H, H-6); 3,58-3,52 (t, 2H, H-3); 2,03 (s, 3H, H-1); 1,90-1,68 (m, 4H, H-4, H-5).

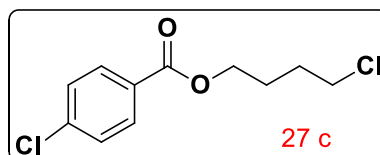
7.7.1.2 Preparação do benzoato de 4-clorobutila (27b)



Aspecto físico: líquido amarelado, pouco viscoso

Rendimento: 90 %

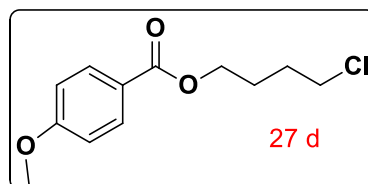
7.7.1.3 Preparação do 4-clorobenzoato de 4-clorobutila (27c)



Aspecto físico: líquido amarelado, pouco viscoso

Rendimento: 85 %

7.7.1.4 Preparação do 4-metóbenzoato de 4-clorobutila (27d)



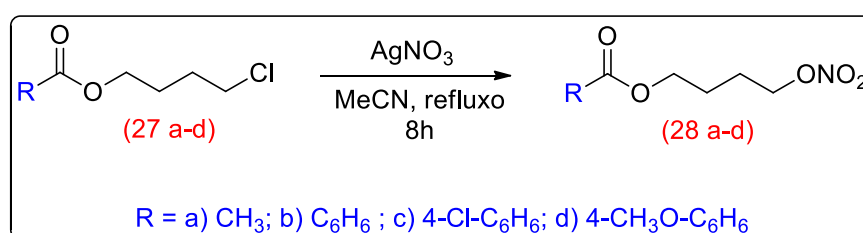
Aspecto físico: líquido amarelado, pouco viscoso

Rendimento: 25 %

7.7.2 Síntese dos Nitratos-Ésteres

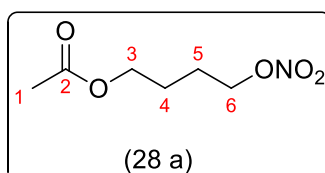
Para a síntese dos nitratos-ésteres foi adotada metodologia apresentada por Abuo-Rahma et al. (2012) (Esquema 7.19), pois a metodologia geral de nitração direta com ácido nítrico, apresentada no item 7.4, utilizada para os demais compostos deste estudo, não é aplicável a ésteres.

Esquema 49 - Metodologia geral para a síntese dos nitratos-ésteres



Em um balão de 25 mL, uma solução do cloreto correspondente (27a-d) (2,7 mmol) em 5 mL de acetonitrila foi tratada em pequenas porções com uma solução de nitrato de prata (4 mmol) solubilizado em 10 mL de acetonitrila. A mistura ficou sob refluxo durante 8 horas. O precipitado formado foi filtrado e o solvente foi evaporado. O resíduo foi dissolvido em diclorometano, lavado com água destilada (2 x 25 mL) e brine (2 x 25 mL), seco no sulfato de sódio, filtrado e a fase orgânica foi evaporada.

7.7.2.1 Síntese do Acetato de 4-nitrooxibutílica (NE1) (28a)



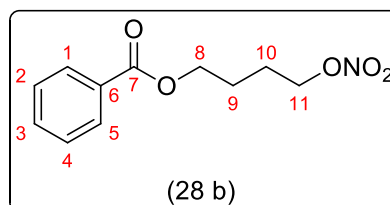
Aspecto físico: líquido amarelado, pouco viscoso

Rendimento: 64 %

Espectroscopia na região de Infravermelho (ATR, cm^{-1}): 2964, 2918 (ν_{as} $\text{Csp}^3 - \text{H}$), 1736 (ν_{as} $\text{C} = \text{O}$); 1626 (ν_{as} $\text{N} \equiv \text{O}$); 1278 (ν_{s} $\text{N} - \text{O}$); 1234 e 1043 (estiramento $\text{C} - \text{O}$); 860 (ν $\text{N} = \text{O}$).

Espectroscopia de RMN ^1H (CDCl_3 , 100 MHz, δ ppm): 4,55-4,41 (t, 2H, H-6); 4,19-2 (t, 2H, H-3); 2,03 (s, 3H, H-1); 1,90-1,68 (m, 4H, H-4, H-5).

7.7.2.2 Síntese do Acetato de 4-nitrooxibutíla (NE2) (28b)



Aspecto físico: líquido amarelado, pouco viscoso

Rendimento: 61 %

Espectroscopia na região de Infravermelho (ATR, cm^{-1}): 2953, 2868 (ν_{as} $\text{Csp}^3 - \text{H}$), 1712 (ν_{as} $\text{C} = \text{O}$); 1622 (ν_{as} $\text{N} - \text{O}$); 1450 ($\text{C} = \text{C}_{\text{Ar}}$); 1269 (ν_{s} $\text{N} - \text{O}$); 1234 e 1109 ($\text{C} - \text{O}$); 862 (ν $\text{N} = \text{O}$); 707 ($\text{C} = \text{C}_{\text{Ar}}$ fora do plano).

Espectroscopia de RMN ^1H (CDCl_3 , 100 MHz, δ ppm): 8,05-8,02 (d, 2H, $J = 7,1$ Hz, H-1, H-5); 7,61-7,27 (dt, 3H, $J = 14,7$, H-2, H-3, H-4); 4,52-4,32 (m, 2H, H-8); 3,50-3,42 (dd, 2H, $J = 10,7, 5,6$ Hz, H-11) 1,93-1,78 (m, 4H, H-9, H-10).

Espectroscopia de RMN ^{13}C (APT, CDCl_3 , 50 MHz, δ ppm): 166,61 (C-7); 129,63 (C-Ar 1, 2, 3, 4, 5); 129,49 (C-6), 72,61 (C-11); 64,03 (C-8); 25,14 (C-10); 23,67 (C-9)

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABDELLATIF, R. A.; ABDELALL, K. A.; BAKR, B. Nitric Oxide-NASIDS Donor Prodrugs as Hybrid Safe Anti-inflammatory Agents. **Current topics in medicinal chemistry**, v. 17, n. 8, p. 941-955, 2017
2. ALTURA, B. M.; ALTURA, B. T. Differential effects of substrate depletion on drug-induced contractions of rabbit aorta. **American Journal of Physiology**, v. 219, p. 1698-1705, 1970.
3. ALZAWAHRA, W. F. et al. Heme Proteins Mediate the Conversion of Nitrite to Nitric Oxide in the Vascular Wall. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.** n. 295, p. 499, 2008.
4. ATHAYDE-FILHO, P. F. et al. Otimização do Processo de Obtenção do Nitrato de Tetraidrofurfurila – um ótimo corretor do atraso de ignição e reforçador de cetanagem para motores do ciclo diesel. In: **1º CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA EM BIODIESEL**. 2006. Brasília. *Anais*. Disponível em: <<http://www.biodiesel.gov.br/docs/congresso2006/Co-Produtos/OtimizacaoProcesso8.pdf>> Acesso em: 10 de outubro de 2016.
5. ÁVILA FILHO, S.; MACHADO, A.S.; SANTOS, E.P. Purificação da Glicerina Bruta vegetal. I Congresso da rede Brasileira de Tecnologia do Biodiesel. Disponível em: <http://www.biodiesel.gov.br/docs/congresso2006/Co-Produtos/Purificacao4.pdf>. Acesso em: 16 de julho de 2017
6. AZANIA, A. A. P. M. *Potencialidade herbicida do óleo fúsel*. Tese de doutorado, 81f. Jaboticabal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, 2007.
7. AZANIA, A. A. P. M. et al. Germinação de sementes de *Sida rhombifolia* e *Brachiaria decumbens* influenciada por vinhaça, flegmaça e óleo fúsel. **Planta Daninha**, n. 21, p. 443, 2003.
8. BELLISARII, F. I. et al. Nitrates and Other Nitric Oxide Donors in Cardiology – Current Positioning and Perspectives. **Cardiovascular Drugs and Therapy**. n. 26, p. 55, 2012.
9. BODE-BOGER, S. M.; KOJDA, G. Organic Nitrates in Cardiovascular Disease. **Cell Mol. Biol.** n. 51, p. 307, 2005.
10. BORETTI, A. Advantages of Converting Diesel Engines to Run as Dual fuel Ethanol-Diesel. **Applied Thermal Engineering**. n. 47, p. 1, 2012.
11. BOSCHAN, R.; MERROW, R. T.; VAN DOLAH, R. W. The Chemistry of Nitrates Esters. **Chem. Rev.** n. 55, p. 485, 1955.

12. BROHOLM, H.; RUBIN, I.; KRUSE, A.; BRAENDSTRUP, O.; SCHMIDT, K.; SKRIVER, E. B.; LAURITZEN, M. Nitric oxide synthase expression and enzymatic activity in human brain tumors. **Clin Neuropathol.** n. 22, v. 6, p. 273–281, 2003.
13. BRUICE, P. Y. *Química Orgânica*. 4ª Ed. V. 1. São Paulo: Pearson, 2010.
14. BRUNS, E. A. et al. Comparison of FTIR and Particle Mass Spectrometry for the Measurement of Particulate Organic Nitrates. **Environ. Sci. Technol.** n. 44, p. 1056 – 1061. 2010.
15. BYTHEWAY, I.; DARLEY, M. G.; POPELIER, P. L. The calculation of polar surface area from first principles: an application of quantum chemical topology to drug design. **ChemMedChem.** v. 3, p. 445-453. 2008
16. CAI, T. B.; WANG, P. G.; HOLDER, A. A. NO and NO Donors. In: WANG, P. G.; CAI, T. B.; TANIGUCHI, N. *Nitric Oxide Donors*. Germany: Wiley – VCH. p. 3 - 25. 2005
17. CARR, C. J. Pharmacological Properties. In: NEEDLEMANN, P. (Ed). *Organic Nitrates*. Springer-Verlog: New York, Chapter 4. p. 39-56. 1975.
18. CECCATO-ANTONINI, S. R.; SILVA, P. C. Produção de pseudo-hifas e extensões semelhantes a hifas em linhagens industriais de leveduras induzida por álcool isoamílico. **Brazilian Journal of Microbiology**, n. 33, p. 1, 2002.
19. CHEGAEV, K. et al. Synthesis of Some Novel Organic Nitrates and Comparative in Vitro Study of Their Vasodilator Profile. **J. Med. Chem.** n. 52, p. 4020, 2009.
20. CHEN, C. H. Activation of Aldehyde Dehydrogenase-2 Reduces Ischemic Damage to the Heart. **Science.** n. 321, v. 5895, p. 1493, 2008.
21. CHEN, L. P.; LIU, T. T.; YANG, Q.; CHEN, W. H. Thermal Hazard Evaluation for Iso-octanol Nitration with Mixed Acid. **J. Loss Prev. Proc. Ind.** n. 25, p. 631, 2012.
22. CHEN, X. et al. Catalytic fast pyrolysis of biomass to produce furfural using heterogeneous catalysts. **J. Anal. Ap. Pyr. In Press.** 2017
23. CHIU, C.; DASARI, M.; SUTTERLIN, W. Dehydration of glycerol to acetol catalytic reative distillation. **Chem. Eng. Sci.** n. 52, p. 3543, 2006.
24. CHOUDHARI, S. K.; CHAUDHARY, M.; BAGDE, S.; GADBAIL, A. R.; JOSHI, V. Nitric oxide and cancer: a review. **World Journal of Surgical Oncology.** n. 11, p. 118-129. 2013.

25. CIRIMINNA, R.; KATRYNIOK, B.; PAUL, S. B.; DUMEIGNIL, F.; PAGLIARO, M. Glycerol-derived renewable polyglycerols: A class of versatile chemicals of wide potential application. **Org. Process Res. Dev.**, n. 19, p. 748–754, 2015.
26. CLARKE, J. L. Photochemical reactions of thiols with organic nitrates: oxygen atom transfer. **Can. J. Chem.** V. 84, p. 709. 2006.
27. CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S. Organic Chemistry. 2^a Ed. Oxford: **Oxford**. 2012.
28. CSONT, T. Nitroglycerin-Induced Preconditioning: interaction with nitrate tolerance. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.** n. 298, v. 2, p. 308, 2010.
29. DAIBER, A.; WENZEL, P.; OELZE, M.; MUNZEL, T. New Insights into Bioactivation of Organic Nitrates, Nitrate Tolerance And Crosstolerance. **Clin. Res. Cardiol.** n. 97, v. 1, 2008.
30. DAINA, A.; ZOETE, V. A BOILED-Egg To Predict Gastrointestinal Absorption and Brain Penetration of Small Molecules. **ChemMedChem** v. 11, p. 1117–1121. 2016.
31. DAINA, A.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. iLOGP: A Simple, Robust, and Efficient Description of n-Octanol/Water Partition Coefficient for Drug Design Using the GB/SA Approach. **J. Chem. Inf. Model.** v.54, p. 3284–3301. 2014.
32. DAINA, A.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, druglikeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. **Scientific Reports.** v. 7, p. 1-13. 2017.
33. DAINA, A.; ZOETE, V. A BOILED-Egg to predict gastrointestinal absorption and brain penetration of small molecules. **ChemMedChem.** v. 11, p. 1117-1121. 2016.
34. DAVIES, T. E. et al. Dehydrative etherification reactions of glycerol with alcohols catalyzed by recyclable nanoporous aluminosilicates: Telescoped routes to glyceryl ethers. **ACS Sustainable Chem. Eng.**, n. 4, p. 835–843, 2016.
35. DE MAY, C. Opportunities for the treatment of erectile dysfunction by modulation of the NO axis-alternatives to sildenafil citrate. **Curr Med Res Opin.** n. 14, v. 4, p. 187, 1998.
36. D'SOUZA, G. et al. Case–control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. **New Engl. J. Med.** n. 356, v. 19, p. 1944–1956, 2007.
37. DULCE, R. A. et al. Hydralazine and Organic Nitrates Restore Impaired Excitation-Contraction Coupling by Reducing Calcium Leak Associated with Nitroso-Redox Imbalance. **The Journal of Biological Chemistry.** n. 288, v. 9, p. 6522, 2013.

38. EGAN, W. J.; MERZ, K. M.; BALDWIN, J. J. Prediction of Drug Absorption Using Multivariate Statistics. **J. Med. Chem.** v. 43, p. 3867–3877. 2000.
39. ELDER D., HOLMB R. Aqueous solubility: Simple predictive methods (in silico, in vitro and bio-relevant approaches). **Int. J. Pharm.** v. 453, n. 1, p. 3–11. 2013.
40. ELOFF, J. N. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bactéria. **Planta Medica**, v. 64, p. 711-713, 1978.
41. ERTL P; ROHDE B; SELZER P. Fast calculation of molecular polar surface area as a sum of fragment-based contributions and its application to the prediction of drug transport properties. **J Med Chem.** v. 5, p. 3714-3717. 2000
42. ERTL, P.; SCHUFFENHAUER, A. Estimation of synthetic accessibility score of drug-like molecules based on molecular complexity and fragment contributions. **J. Cheminform.** v. 1, p. 8. 2009.
43. FERREIRA, M. O. Purificação da glicerina bruta a partir da transesterificação do óleo de algodão. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Departamento de Engenharia Química. UFRN. 106 f. 2009.
44. FERREIRA, M. C.; MEIRELLES, A. J. A.; BATISTA, E. A. C. Study of the Fusel Oil Distillation Process. **Ind. Eng. Chem. Res.**, n. 52, v. 6, p. 2336–2351, 2013.
45. FERREIRA, L. et al. Development of a new tool for the selection of pervaporation membranes for separation of fusel oils from ethanol/water mixtures. **J. Memb. Science.** n. 182, p. 215, 2001.
46. FISHER, J. Organic Nitro Series, Recent Advanced in Synthesis and Chemistry, VCH: New York, 1990.
47. FRANÇA-SILVA, M. S. et al. The New Nitric Oxide Donor 2-Nitrate-1,3-Dibuthoxypropan Alters Autonomic Function in Spontaneously Hypertensive Rats. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical.** n. 171, p. 28, 2012a.
48. FRANÇA-SILVA, M. S. et al. The 2-Nitrate-1,3-Dibuthoxypropan, A New Nitric Oxide Donor, Induces Vasorelaxation in Mesenteric Arteries of the Rat. **European Journal of Pharmacology.** n. 690, p. 170, 2012b.
49. FRANCISCO, M. A.; KRYLOWSKI, J. Chemistry of Organic Nitrates: Thermal Chemistry of Linear and Branched Organic Nitrates. **Ind. Eng. Chem. Res.** v. 44. n. 15, 2005.

50. FRANCISCO, M. A.; KRYLOWSKI, J. Chemistry of Organic Nitrates: Thermal Oxidative and Catalytic Chemistry of Organic Nitrates. *Energy & Fuels*. v. 24. n. 7, 2010.
51. FREIRE, I.C.M.; PÉREZ, A.L. ; CARDOSO, A.M.R.; MARIZ, B.A.L.A.; ALMEIDA, L.F.D.; CAVALCANTI, Y.W.; PADILHA, W.W.N. Atividade antibacteriana de Óleos Essenciais sobre *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.16 n.2, 2014.
52. FURCHGOTT, R. F.; ZAWADZKI, J. V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, v. 288, p. 373-376, 1980.
53. GANDINI, A. Furans as offspring of sugars and polysaccharides and progenitors of a family of remarkable polymers: a review of recent progress. **Polym. Chem.**, n. 1, p. 245–251, 2010.
54. GARCIA, V. *Subproduto de destilaria de óleo fúsel: caracterização da composição química e estudo de sua aplicação industrial*. São Caetano do Sul, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos, CEUN-EEM, 2008. Mestrado, 98p.
55. GHOSE, A. K.; VISWANADHAN, V. N.; WENDOLOSKI, J. J. A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases. **J Comb. Chem.** v. 1, p. 55–68. 1999.
56. GOPALAKRISHNAN, B.; NASH, K. M.; VELAYUTHAM, M.; VILLAMENA, F. A. Detection of nitric oxide and superoxide radical anion by electron paramagnetic resonance spectroscopy from cells using spin traps, **J. Vis. Exp.** n. 66, p. 2810, 2012.
57. GORI, T. et al. Nitroglycerin Protects the Endothelium from Ischaemia and Reperfusion: human mechanistic insight. **Br. J. Clin. Pharmacol.** n. 64, v. 2, p. 145, 2007.
58. GORI, T. Tolerance to Nitroglycerin-Induced Preconditioning of the Endothelium: a human in vivo study. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.** n. 298, v. 2, p. 340, 2010.
59. GORI, T.; DAIBER, A. Non-Hemodynamic Effects of Organic Nitrates and the Distinctive Characteristics of Pentaerythrityl Tetranitrate. **Am. J. Cardiovasc. Drugs.** n. 9, v. 1, p. 7, 2009.
60. GORI, T.; MUNZEL, T. Symptomatic and Hemodynamic Benefit of Pentaerythrityl Tetranitrate and Hydralazine in a Case of Congestive Heart Failure. **Clin. Res. Cardiol.** n. 98, v. 10, p. 677, 2009.

61. GOVONI, M.; TOCCHETTI, P.; LUNDBERG, J. O. Metabolism and Pathways for Denitration of Organic Nitrates in the Human Liver. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** n. 346, p. 36, 2013.
62. GUGLIETTA, A. Pharmacotherapy of Gastrointestinal Inflammation. **Springer**. 146p. 2012.
63. HAMILTON, C. J.; REID, L. S.; JAMAL, S. A. Organic Nitrates for Osteoporosis: an update. **BoneKEY Reports**, v. 2, n. 259, p. 1 – 5, 2013.
64. HARRISON, R. Organic Nitrates and Nitrites. In: WANG, P. G.; CAI, T. B.; TANIGUCHI, N. *Nitric Oxide Donors*. Germany: **Wiley – VCH**. p. 33 – 54, 2005.
65. HERVERT, B.; MCCARTHY, P. D.; PALENCIA, H. Room temperature synthesis of glycerol carbonate catalyzed by N-heterocyclic carbenes. **Tetrahedron Lett.** n. 55, p. 133–136, 2014.
66. HOLLENBERG, P. F. Characteristics and common properties of inhibitors, inducers, and activators of CYP enzymes. **Drug Metab. Rev.** v. 34, p. 17–35. 2002.
67. HOUGHTON, P. J.; HOWES, M. J.; LEE, C. C.; STEVENTON, G. Uses and abuses of *in vitro* tests in ethnopharmacology: visualizing an elephant. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, p. 391–400, 2007.
68. HUANG, S. M. ET AL. New era in drug interaction evaluation: US Food and Drug Administration update on CYP enzymes, transporters, and the guidance process. **J. Clin. Pharmacol.** v. 48, p. 662–670. 2008.
69. IGNARRO, L.J. After 130 years, the molecular mechanism of action of nitroglycerin is revealed. **Proc. Natl. Acad. Sci.** n.12, p. 7816–7817. 2002.
70. JAMAL, S. A.; REID, L. S.; HAMILTON, C. J. The Effects of Organic Nitrates on Osteoporosis: a systematic review. **Osteoporos. Int.** n. 24, p. 763, 2013.
71. JEROME, F.; POUILLOUX, Y.; BARRAULT, J. Rational design of solid catalysts for the selective use of glycerol as a natural organic building block. **ChemSusChem**, n. 1, p. 586–613, 2008.
72. JOHNSON Jr., E. M. Chemistry of Organic Nitrates. In: NEEDLEMAN, P. (Ed.). *Organic Nitrates*. New York: **Spring-Verlog**, p. 15 – 22, 1975.
73. JUGDUTT, B. I. Role of nitrates after acute myocardial infarction. **Am. J. Med.** n. 70, p. 82, 1992.
74. KARINEN, R. S.; KRAUSE, A. O. I. New biocomponents from glycerol. **Applied Catalysis A: General**. n. 306, p. 128, 2006.

75. KERNS, E., DI, L. Drug-Like Properties: Concepts, Structure Design And Methods From Adme To Toxicity Optimization. Londres: **Academic press**, 2008, 552 p.
76. KIRK-OTHMER, E. T. Glycerol. In: American Society of Chemistry. **Enciclopédia of chemical technology**. 5 ed. New York: John Wiley, 2007.
77. KLEMENSKA, E.; BERESEWICZ, A. Bioactivation of Organic Nitrates and the Mechanism of Nitrate Tolerance. **Cardiol. J.** n. 16, p. 11, 2009.
78. KOENIG, A. et al. Potency and in Vitro Tolerance of Organic Nitrates: partially denitrated metabolites contribute to the tolerance-devoid activity of pentaerythrityl tetranitrate. **J. Cardiovasc. Pharmacol.** n. 50, p. 68, 2007a.
79. KOENIG, A. et al. NO donors. Part 16: investigations on structure–activity relationships of organic mononitrates reveal 2-nitrooxyethylammoniumnitrate as a high potent vasodilator, **Bioorg. Med. Chem. Lett.** n. 17, p. 5881, 2007b.
80. KRANTZ Jr., J. C. Historical Background. In: NEEDLEMAN, P. (Ed.). *Organic Nitrates*. New York: **Spring-Verlog**, p. 1-13, 1975.
81. KRAVTSOV, G. M.; BRUCE, I. C.; WONG, T. M.; KWAN, C. A new view of K⁺-induced contraction in rat aorta: the role of Ca²⁺ binding. **Pflügers Archiv European Journal of Physiology**, v. 446, v. 5, p. 529-540, 2003.
82. KÜÇÜK, Z.; CEYLAN, K. Potential utilization of fusel oil: A kinetic approach for production of fusel oil esters through chemical reaction. **Turkish Journal of Chemistry**, n. 22, p. 289, 1998.
83. LANGE, J. P.; VAN DER HEIDE, E.; BUIJTENEN, J. V.; PRICE, R. Furfural - A Promising Platform for Lignocellulosic Biofuels. **ChemSusChem.**, n. 5, p. 150 – 166, 2012.
84. LEÃO, R. M. Álcool, energia Verde. Embu: Igual, 2002.
85. LEIER, C. V. Central and regional hemodynamic effects of intravenous isosorbide dinitrate, nitroglycerin and nitroprusside in patients with congestive heart failure. **Am. J. Cardiol.** n. 48, v. 6, p. 1115, 1981.
86. LI, H.; WANG, S. Organic Nitrates Favor Regression of Left Ventricular Hypertrophy in Hypertensive Patients on Chronic Peritoneal Dialysis. **Int. J. Mol. Sci.** n. 14, p. 1069 – 1079. 2013.
87. LI, H.; WANG, S. Organic Nitrates Favor Regression of Left Ventricular Hypertrophy in Hypertensive Patients on Chronic Peritoneal Dialysis. **Int. J. Mol. Sci.** n. 14, p. 1069, 2013.
88. LIAO, J. K.; LAUFS, U. Pleiotropic Effects of Statins. **Pharmacology and Toxicology**. n. 45, p. 89, 2004.

89. LIPINSKI C.A., LOMBARDO, F., DOMINY, B.W., FREENEY, P.J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Adv. Drug. Deliv.** v. 46, p. 3-26. 1997.
90. LIPINSKI, C. A. Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. **Drug. Discov. Today**, v. 1, n. 4, p. 337-341, 2004.
91. LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; FEENEY, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Adv. Drug Deliv. Rev.** 23, 3-25, 1997.
92. LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; FEENEY, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Adv. Drug. Deliv. Rev.** v. 46, p. 3-26. 2001.
93. LISI, M. et al. Chronic Protection Against Ischemia and Reperfusion-Induced Endothelial Dysfunction During Therapy with Different Organic Nitrates. **Clin. Res. Cardiol.** n. 101, p. 453, 2012.
94. LOIBL, S. et al. Expression of endothelial and inducible nitric oxide synthase in benign and malignant lesions of the breast and measurement of nitric oxide using electron paramagnetic resonance spectroscopy. **Cancer**. n. 95, v. 6, p. 1191-1198, 2002.
95. LOVERING, F.; BIKKER, J.; HUMBLET, C. Escape from Flatland: Increasing Saturation as an Approach to Improving Clinical Success. **J. Med. Chem.** v. 52, p. 6752-6756. 2009.
96. MACHADO, N. T. et al. Nitric Oxide as a Target for the Hypotensive and Vasorelaxing Effects Induced by (Z)-Ethyl-12-Nitrooxy-Octadec-9-Enoate in Rats. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. n. 62, p. 317, 2014.
97. MANNHOLD, R.; PODA, G. I.; OSTERMANN, C. Calculation of molecular lipophilicity: State of the art and comparison of log P methods on more than 96,000 compounds. **J. Pharm. Sci.** v. 98, p. 861-893. 2009.
98. MARTIN, Y. C. A Bioavailability Score. **J. Med. Chem.** v. 48, p. 3164-3170. 2005.
99. MELO E. G. V. Avaliação da glicerina bruta na estimulação de bactérias hidrocarbonoclasticas para remediação de áreas contaminadas por hidrocarbonetos. Salvador, Programa De Pós-graduação Em Geoquímica, UFBA, 2011. Mestrado, 68p.
100. MENDES-JÚNIOR. L. G. Et Al. The new nitric oxide donor cyclohexanenitrate induces vasorelaxation, hypotension, and antihypertensive

- effects via NO/cGMP/PKG pathway. **Front. Fisiology**. v. 6, n. 243, p. 1 – 9, 2015.
101. MENTZER, S. J. et al. Potential mechanism of vasomotor dysregulation after lung transplantation for primary pulmonary hypertension. **J. Heart Lung Transplant**. n. 14, p. 387, 1995.
102. MOLLACE, V. et al. The Effect of Peroxynitrite Decomposition Catalyst MnTBAP on Aldehyde Dehydrogenase-2 Nitration by Organic Nitrates: role in nitrate tolerance. **Pharmacol. Res.** n. 89, p. 29, 2014.
103. MONCADA, S.; PALMER, R. M.; HIGGS, E. A. Nitric Oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. **Pharmacol. Rev.** n. 43, p. 109, 1991.
104. MONTENEGRO, M. F. et al. Profound differences between humans and rodents in the ability to concentrate salivary nitrate: implications for translational research, **Redox Biol.** n. 10, p. 206-210, 2016.
105. MORIGUCHI, I.; SHUICHI, H.; LIU, Q.; NAKAGOME, I.; MATSUSHITA, Y. Simple Method of Calculating Octanol/Water Partition Coefficient. **Chem. Pharm. Bull.** v. 40, 127–130. 1992.
106. MORIGUCHI, I.; SHUICHI, H.; NAKAGOME, I.; HIRANO, H. Comparison of reliability of log P values for Drugs calculated by several methods. **Chem. Pharm. Bull.** v.42, p. 976–978. 1994.
107. MOTA, C. J. A.; SILVA, C. X. A.; GONÇALVES, V. L. C. Gliceroquímica: Novos Produtos e Processos a partir da Glicerina de Produção de Biodiesel. **Química nova**, v. 32, n. 3, p 639-648. Rio de Janeiro, 2009.
108. MOTA, C. J. A; et al. Reação de eterificação do glicerol catalisada por sólido ácido. Disponível em: <<http://www.biodiesel.gov.br/docs/congresso2007/coproduto/18.pdf>> Acesso em: 28 de maio de 2017.
109. MUEGGE, I.; HEALD, S. L.; BRITTELLI, D. Simple selection criteria for drug-like chemical matter. **J. Med. Chem.** v. 44, p. 1841–1846. 2001.
110. MÜNZEL, T.; DAIBER, A.; GORI, T. Nitrate Therapy: New Aspects Concerning Molecular Action and Tolerance. **Circulation**. n. 123, p. 2132, 2011.
111. NAIDU, M.S.K.; SURYAKAR, A. N.; SWAMI, S. C.; KATKAM, R.V.; KUMBAR, K. M. Oxidative stress and antioxidant status in cervical cancer patients. **Indian J. Clin. Biochem.** n. 22, v. 2, p. 140–144. 2007.
112. NAKATSUKA, M. et al. Clinical Experience of Long-Therm Transdermal Treatment with Nitric Oxide Donor for Womem with Preeclampsia. **Ginecol. Obstet. Invest.** n. 47, p. 13, 1999.

113. NASCIMENTO, P. F. C.; NASCIMENTO, A. C.; RODRIGUES, C. S.; ANTONIOLLI, A. R.; SANTOS, M. P. O.; JÚNIOR, A. M. B., TRINDADE, R. C. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 108-113, 2007.
114. NEEDLEMAN, P. Organic Nitrate Metabolism. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.** n. 16, p. 81, 1976.
115. OGURTSOV, V. A.; SHASTIN, A.; ZLOTIN, S. G.; RAKITIN, O. A. Short and efficient synthesis of 1-(2-oxido-1,2,5-oxadiazol-3-yl)alkyl nitrates by unconventional nitroxylation of 3-alkyl-1,2,5-oxadiazole 2-oxides. **Tetrahedron Letters**. n. 57, p. 4027 – 4030, 2016.
116. OLAH, G. A.; RIPUDAMAN, M.; NARANG, S. C. Nitration, Methods and Mechanism, VCH: New York, 1989.
117. OLZE, M.; SCHUHMACHER, S.; DAIBER, A. Organic Nitrates and Nitrate Resistance in Diabetes: the role of vascular dysfunction and oxidative stress with emphasis on antioxidant properties of pentaerithrityl tetranitrate. *Experimental Diabetes Research*. n. 2010, p. 1, 2010.
118. OMAR, S. A.; ARTIME, E.; WEBB, A. J. A comparison of organic and inorganic nitrates/nitrites. *Nitric Oxide*. **2012**; 26: 229.
119. OMS. Cardiovascular Diseases. 2016. Disponível em: www.paho.org/bra/index.php?option=com_content...id...cardiovasculares. Acesso em: 02 de junho de 2017
120. OSINSKI, M. T., RAUCH, B. H., SCHRÖR, K. Antimitogenic actions of organic nitrates are potentiated by sildenafil and mediated via activation of protein kinase A. **Mol Pharmacol**. n. 59, v. 5, p. 1044, 2001.
121. PATIL, A.G.; KOOLWAL, S.W.; BUTALA, H.D. Fusel oil: composition, removal and potential utilization. **Inter. Sugar Journal**. n. 104, p. 51, 2002.
122. PAULA, R. B. Efeitos do 2-nitrato-1,3-dioctanóxiopropano (NDOP) em aorta de camundongo C57BL/6. 87f. 2016. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. UFPB. João Pessoa – PB. 2016
123. PAVIA, D. L. *Introdução à Espectroscopia*. 4ª Ed. (Tradução). São Paulo: Cengage Learning, 2010.
124. PÉREZ, E. R. et al. Análise dos álcoois, ésteres e compostos carbonílicos em amostras de óleo fúsel. **Quim. Nova**. n. 24, p. 10, 2001.

125. QUEIROZ, T. M. et al. Cardiorespiratory Effects Induced by 2-Nitrate-1,3-Dibuthoxypropan Are Reduced by Nitric Oxide Scavenger in Rats. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**. n. 181, p. 31, 2014.
126. RHODE, J. Pharmaceutical composition for the treatment of inflammatory bowel disease and irritable bowel syndrome. **WO Patent 99/16436**, 1999.
127. RITCHIE, T. J.; ERTL, P.; LEWIS, R. The graphical representation of ADME-related molecule properties for medicinal chemists. **DrugDiscov. Today**. v. 16, p. 65–72. 2011.
128. SÁNCHEZ, C. A.; SÁNCHEZ, O. A.; ORJUELA, A.; GIL, I. A.; RODRÍGUEZ, G. Vapor–Liquid Equilibrium for Binary Mixtures of Acetates in the Direct Esterification of Fusel Oil. **J. Chem. Eng.** n. 62, v. 1, p. 11 – 19, 2017.
129. SANTACESARIA, E.; VITIELLO, R.; TESSER, R.; RUSSO, V.; TURCO, R.; DI SERIO, M. Chemical and Technical Aspects of the Synthesis of Chlorohydrins from Glycerol. **Ind. Eng. Chem. Res.** n. 53, p. 8939–8962, 2014.
130. SANTOS, A. F. *Novas perspectivas da glicerina – síntese de novos nitratos com propriedades farmacológicas e melhoradores de cetano*. João Pessoa, Programa de Pós-Graduação em Química, UFPB, 2009. Mestrado, 115p.
131. SARTORATTO, A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELINA, C.; FIGUEIRA, G. M.; DUARTE, M. C. T.; REHDER, V. L. G. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, p. 275-280, 2004.
132. SAVJANI, K. T.; GAJJAR, A. K.; SAVJANI, J. K. Drug solubility: importance and enhancement techniques. **ISRN Pharm.** 2012
133. SCATENA, R.; BOTTONI, P.; PONTOGLIO, A.; GIARDINA, B. Pharmacological Modulation of Nitric Oxide Release: new pharmacological perspectives, potential benefits and risks. **Curr. Med. Chem.** n. 17, p. 61, 2010.
134. SENGUPTA, R.; BILLIAR, T. R.; STOYANOVSKY, D.A. Studies toward the analysis of S-nitrosoproteins. **Org. Biomol. Chem.** n. 7, v. 2, p. 232–234, 2009.
135. SHITYAKOV S, NEUHAUS W, DANDEKAR T, FÖRSTER C. Analysing molecular polar surface descriptors to predict blood-brain barrier permeation. **Int J Comput Biol Drug Des.** v. 6, p. 146-56. 2013.

136. SOMAN, B.; VIJAYARAGHAVAN, G. The role of organic nitrates in the optimal medical management of angina. **European Society of Cardiology**. v. 15. 2017.
137. SOUZA, E. L.; STAMFORD, T. L. M.; LIMA, E. O.; TRAJANO, V. N. Effectiveness of *Origanum vulgare* L. essential oil to inhibit the growth of food spoiling yeasts. **Food Control**, v. 18, n. 5, p. 409-413, 2007.
138. SOUZA, T. B. Revisão da equação de cálculo de índice de cetano para as características do diesel comercializado no Paraná. Curitiba, Programa de Pós-Graduação em Engenharia, UFPR, 2008. Mestrado. 120p.
139. TANIELIAN, S. K. et al. An efficient, selective process for the conversion of glycerol to propylene glycol using fixed bed raney copper catalysts. **Org. Process Res. Dev.** n.18, p. 1419–1426, 2014.
140. TAQUEDA, M. E. S.; OPPE, E. E. G.; SALVAGNINI, W. M. Desidratação da Glicerina Obtida a partir do Biodiesel por Destilação Azeotópica com Tolueno. In: 4o Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, 2007, Varginha. CD do Congresso, 2007.
141. TESEI, A.; RICOTTI, L.; ULIVI, P.; AMADORI, D.; ZOLI, W. NCX 4016, a nitric oxide-releasing aspirin derivative, exhibits a significant antiproliferative effect and alters cell cycle progression in human colon adenocarcinoma cell lines. **Int. J. Oncol.** n. 22, v. 6, p. 1297 – 1302. 2003
142. TESSER, R., SANTACESARIA, E., DI SERIO, G., DI NUZZI, G., & FIANDRA, V. Kinetics of Glycerol Chlorination with Hydrochloric Acid. **Ind. Eng. Chem. Res.** 46: 6456-6465, 2007.
143. THATCHER, G. R. J. Organic nitrates and nitrites as stores of NO bioactivity. In: FAASSEN, E. V.; VANIN, A. F. (Eds.). *Radicals for life: The various forms of nitric oxide*. Oxford: **Elsevier**. p. 347 – 380, 2007.
144. THATCHER, G. R. J.; WELDON, H. NO Problem Nitroglycerin: organic nitrate chemistry and therapy. **Chem. Soc. Rev.** n. 27, p. 331, 1998.
145. THUM, T.; WIEBKING, V.; ERTL, G.; BAUERSACHS, J. Organic Nitrates Differentially Modulate Circulating Endothelial Progenitor Cells and Endothelial Function in Patients with Symptomatic Coronary Artery Disease. **Antioxidants & Redox Signaling**. n. 15, v. 4, p. 925, 2011.
146. TSOU, P. S. Differential Metabolism of Organic Nitrates by Aldehyde Dehydrogenase 1a1 and 2: substrate selectivity, enzyme inactivation, and active cysteine sites. **The AAPS Journal**. n. 13, v. 4, p. 548, 2011.
147. VAN HOVE, C. E.; VAN DER DONCKT, C.; HERMAN, A. G.; BULT, H.; FRANSEN, P. Vasodilator efficacy of nitric oxide depends on mechanisms of

- intracellular calcium mobilization in mouse aortic smooth muscle cells. **British Journal of Pharmacology**, v. 158, n. 3, p. 920-930, 2009.
148. VEBER, D. F.; JOHNSON, S. R.; CHENG, H. U.; SMITH, B. R.; WARD, K. W.; KOPPLE, K. D. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates, **J. Med. Chem.** n. 45, p. 2615-2623, 2002.
149. VIDAL, C.; GARCÍA-ÁLVAREZ, J. Glycerol: A biorenewable solvent for base-free Cu(I)-catalyzed 1,3-dipolar cycloaddition of azides with terminal and 1-iodoalkynes. Highly efficient transformations and catalyst recycling. **Green Chem.**, n. 16, p. 3515–3521, 2014.
150. VOEGTLIN, C.; MACHT, D. I. The action nitrites and drugs on the digitalis group on the isolated coronary artery. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** n. 5, p. 77-86. 1913.
151. VOLTOLINI, B. G. Síntese de análogos a chalconas via condensação aldólica, caracterização e avaliação do seu potencial como inibidores da enzima YopH de *Yesinia* SP. 2014. 122f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2014.
152. WALKER, L. F.; BOURGHIDA, A.; CONNOLLY, S.; WILLS, M., Synthesis of 2,5-dihydrofurans via alkylidene carbene insertion reactions, **Tetrahedron Letters**, v. 39, n. 29, p. 5273-5276, 2002.
153. WANG, P. G. et al. Nitric Oxide Donors: Chemical Activities and Biological Applications. **Chem. Rev.** n. 102, p. 1091, 2002.
154. WANG, Q. Q. et al. Synthesis of Organic Nitrates of Luteolin as a Novel Class of Potent Aldose Reductase Inhibitors. **Bioorg. Med. Chem.** v. 21, p. 4301 – 4310. 2013.
155. WANG, Z. Claisen-Schmidt Condensation (Claisen-Schmidt Reaction). *In*: Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents. **John Wiley & Sons Inc.** p. 660 – 664. 2010.
156. WEI, J. et al. Nitrates for Stable Angina: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. **International Journal of Cardiology**. n. 146, p. 4, 2011.
157. WENZEL, P. et al. Number of Nitrate Groups Determines Reactivity and Potency of Organic Nitrates: a proof of concept study in ALDH-2-/- mice. **Br. J. Pharmacol.** n. 150, p. 526, 2007.
158. WILDMAN, S. A.; CRIPPEN, G. M. Prediction of Physicochemical Parameters by Atomic Contributions. **J. Chem. Inf. Model.** v. 39, 868–873. 1999.

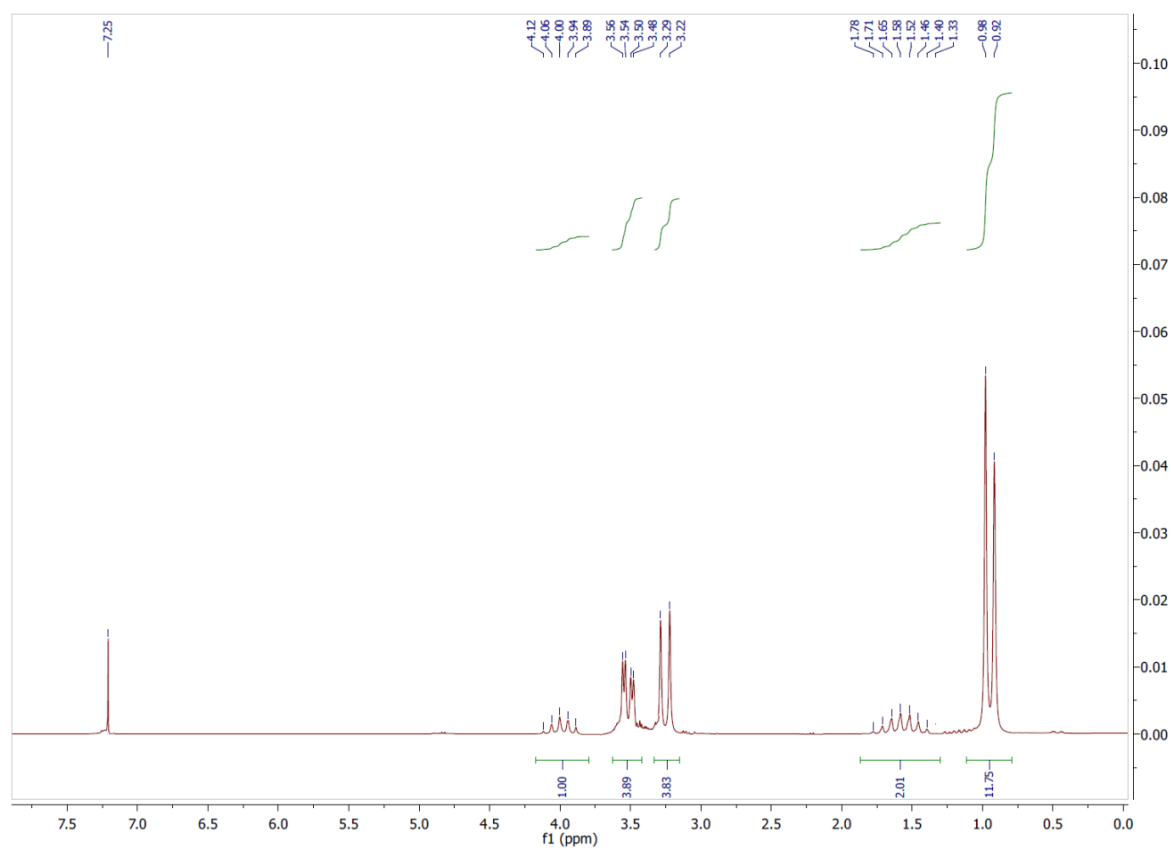
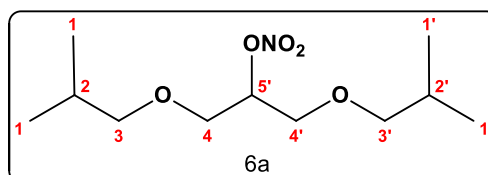
159. ZOETE, V.; DAINA, A.; BOVIGNY, C.; MICHIELIN, O. SwissSimilarity. A web tool for low to ultra high-throughput ligand-based virtual screening. **J. Chem. Inf. Model.** v. 58, p. 1399–1404. 2016.
160. ZHUGE, Z. et al. Synthesis and characterization of a novel organic nitrate NDHP: Role of xanthine oxidoreductase-mediated nitric oxide formation. **Redox Biology.** n. 13, p. 163–169. 2017.

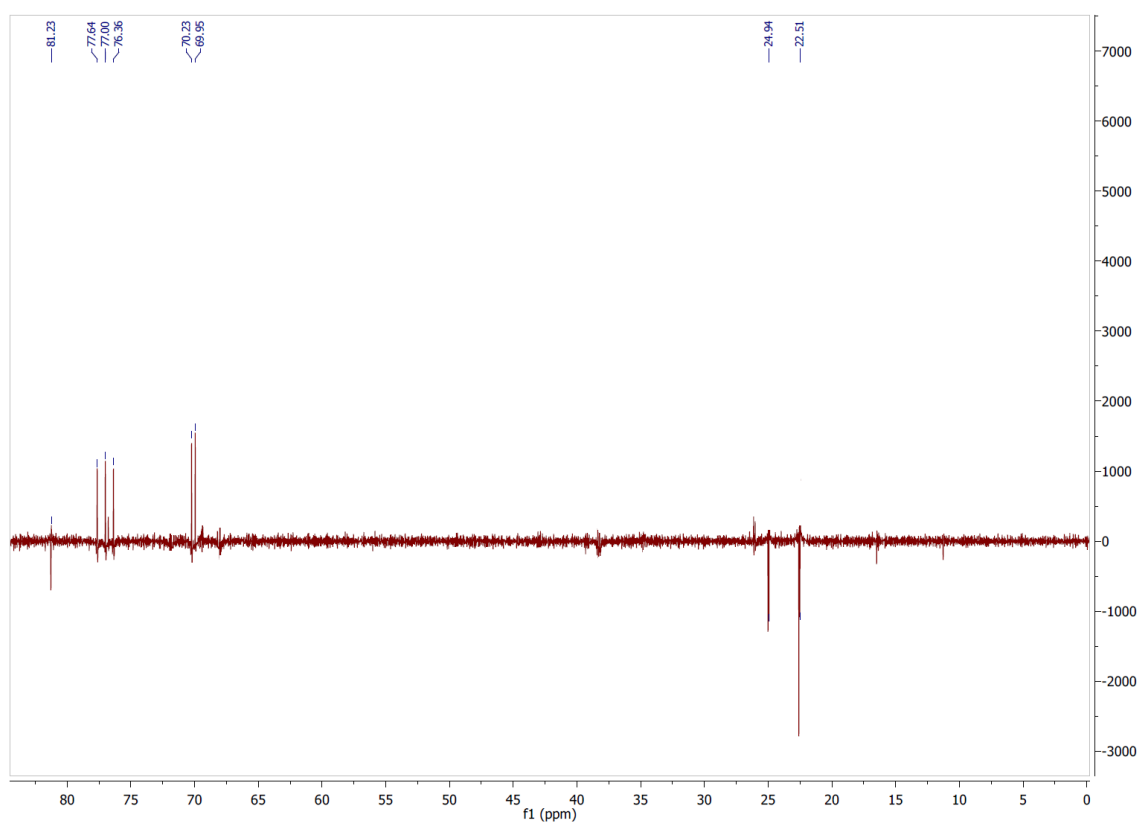
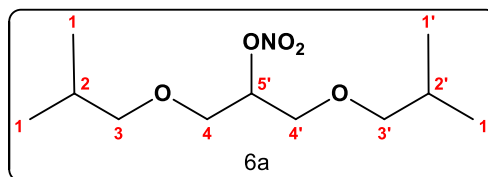
ANEXOS



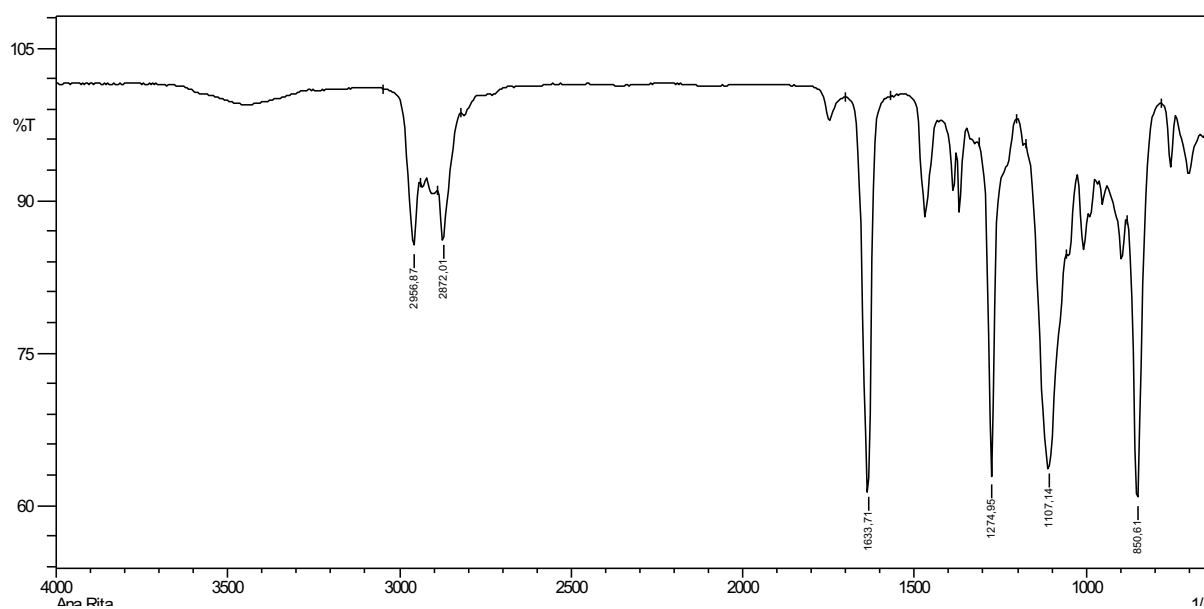
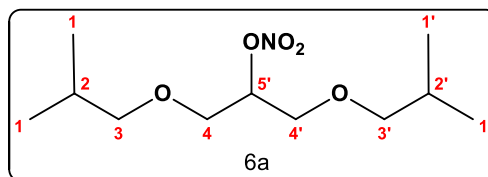
ANEXO 1: ESPECTROS DE IV, RMN ^1H E RMN ^{13}C DOS NITRATOS SINTETIZADOS

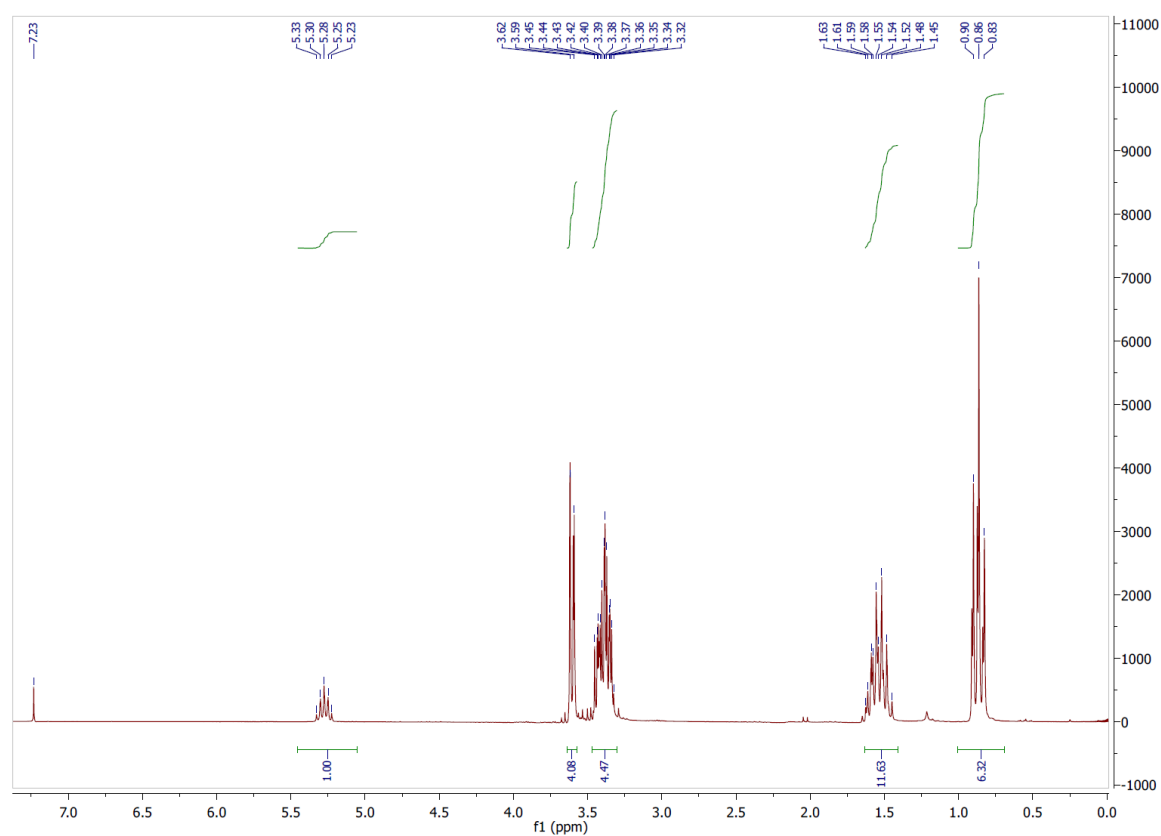
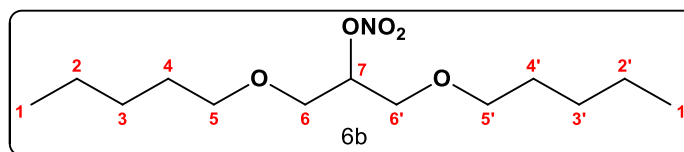
Espectro 13 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) do NDIBP (6a)

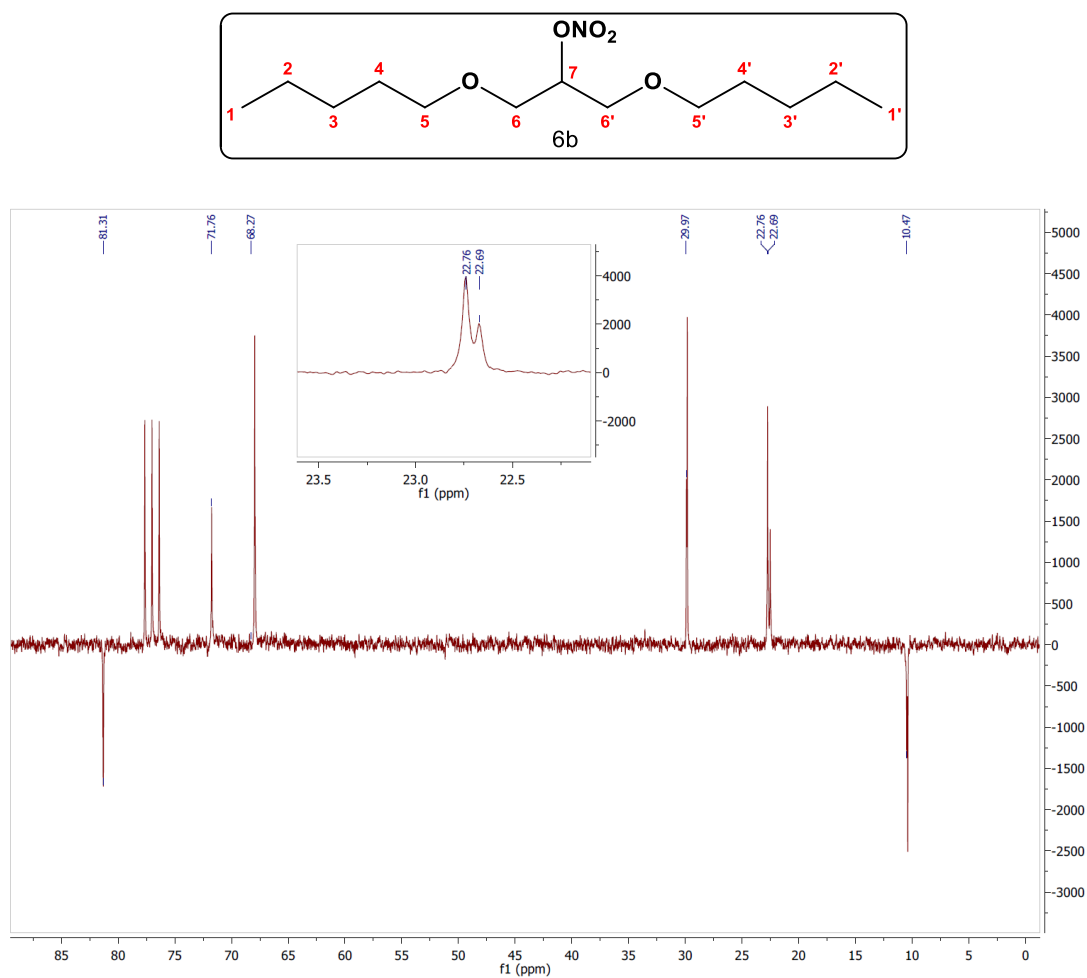


Espectro 14 - Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) do NDIBP (6a)

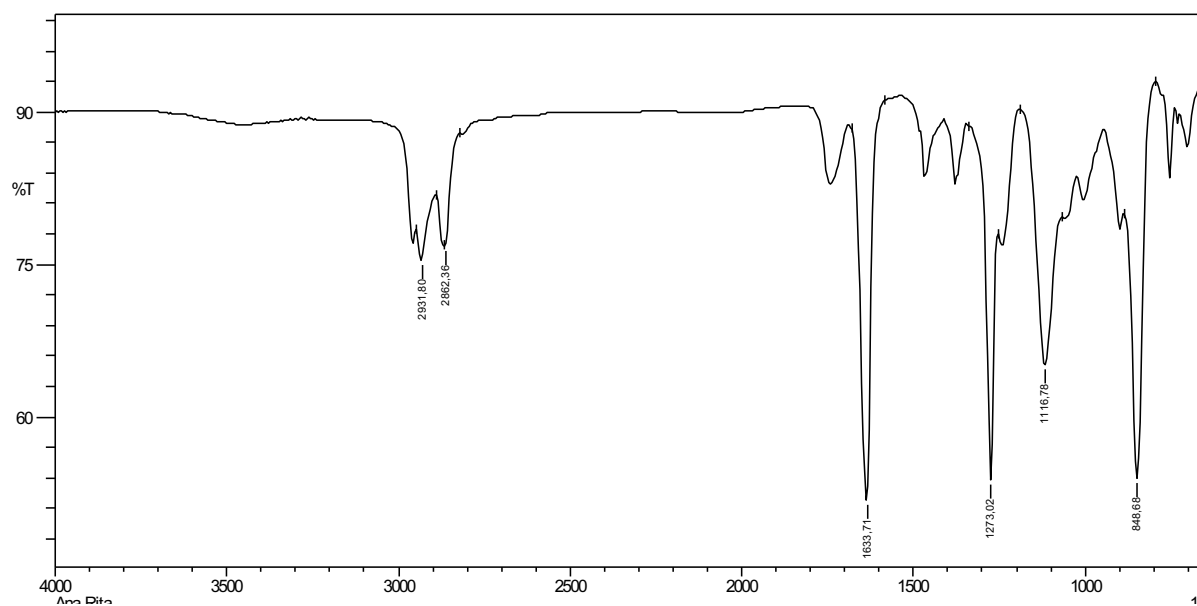
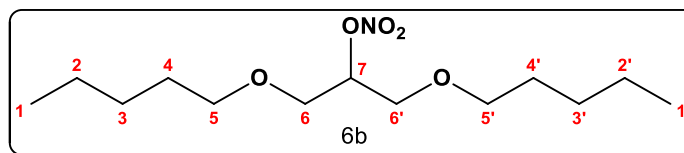
Espectro 15 - Espectro de IV (ATR) do NDIBP (6a)

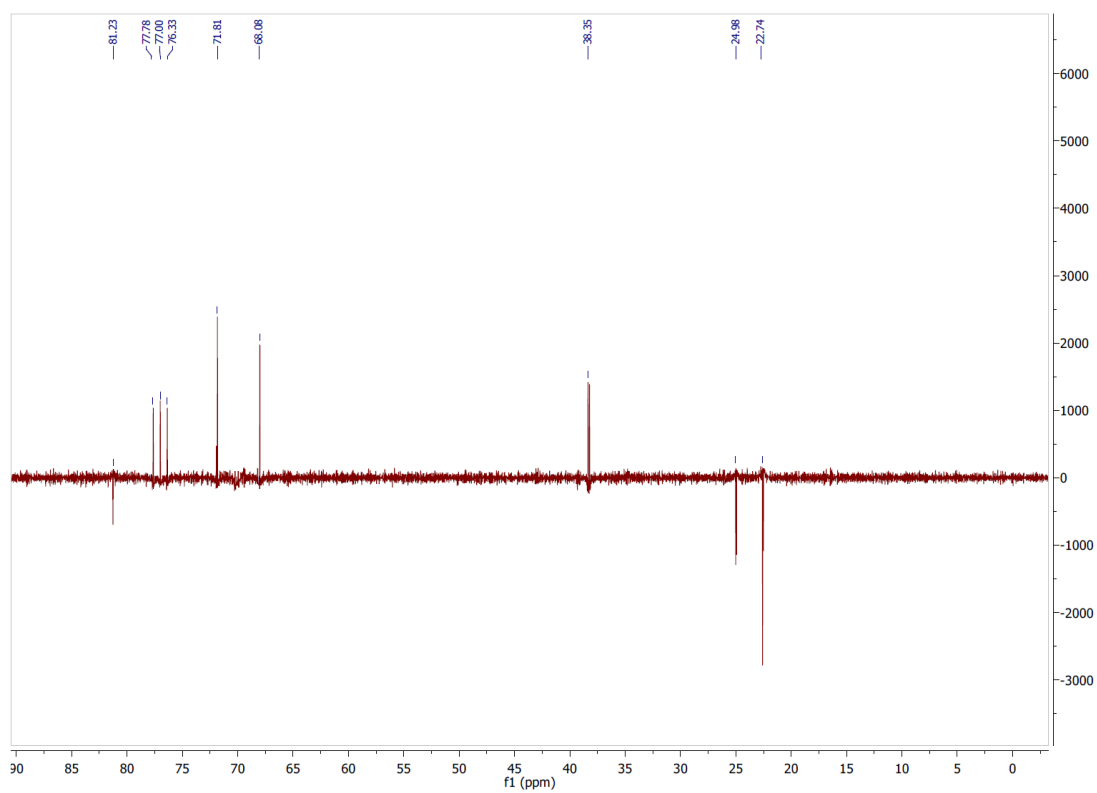
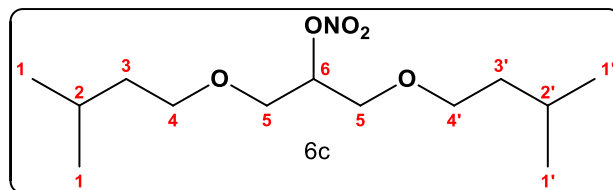


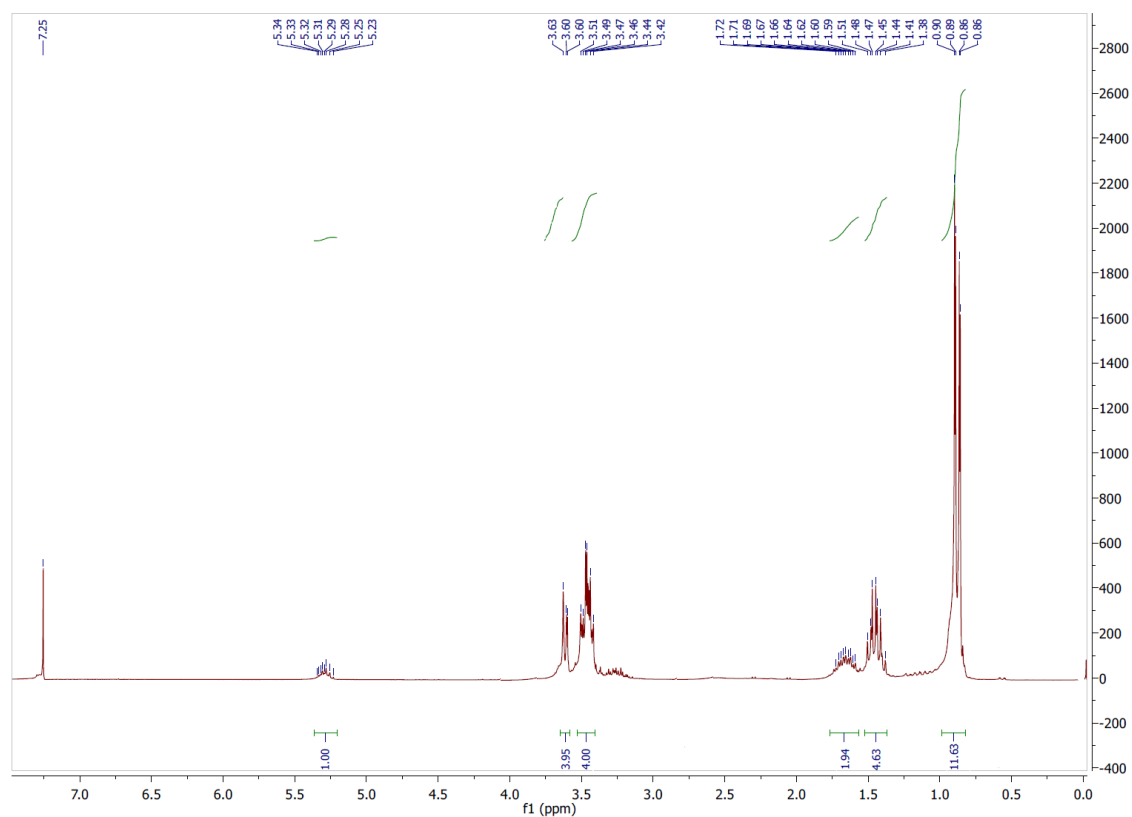
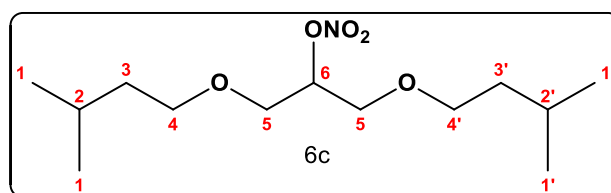
Espectro 16 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) do NDPP (6b)

Espectro 17 - Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) do NDPP (6b)

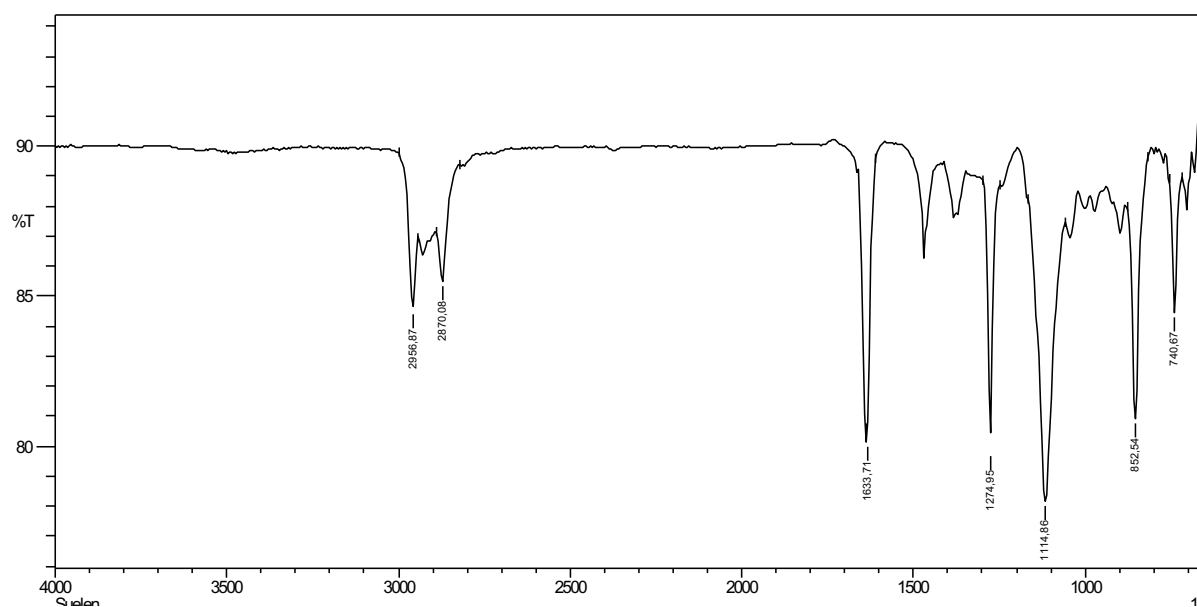
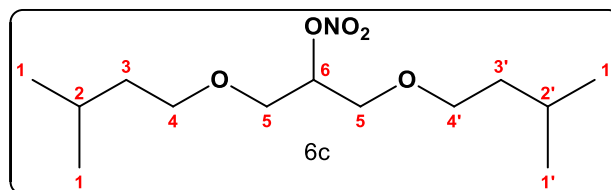
Espectro 18 - Espectro de IV (ATR) do NDPP (6b)

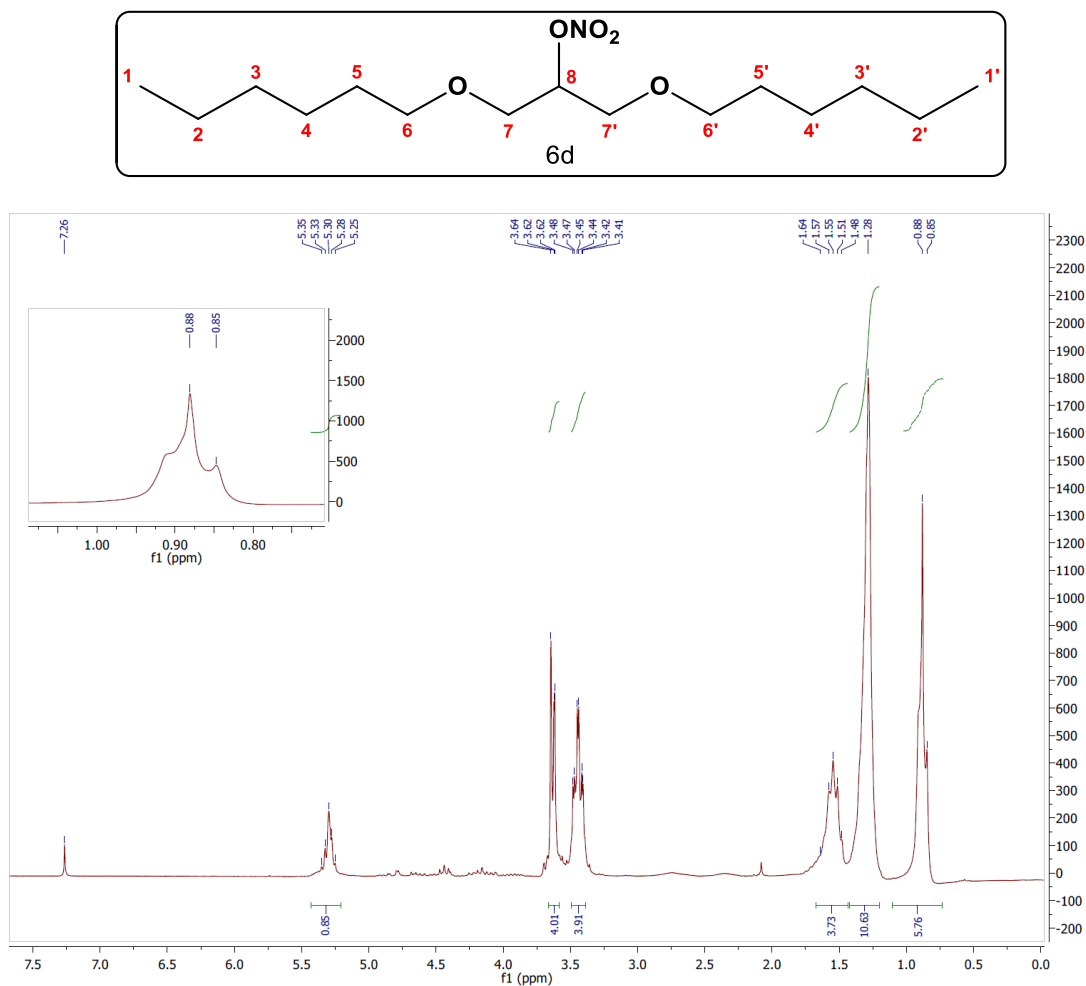


Espectro 19 - Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) do NDIPP (6b)

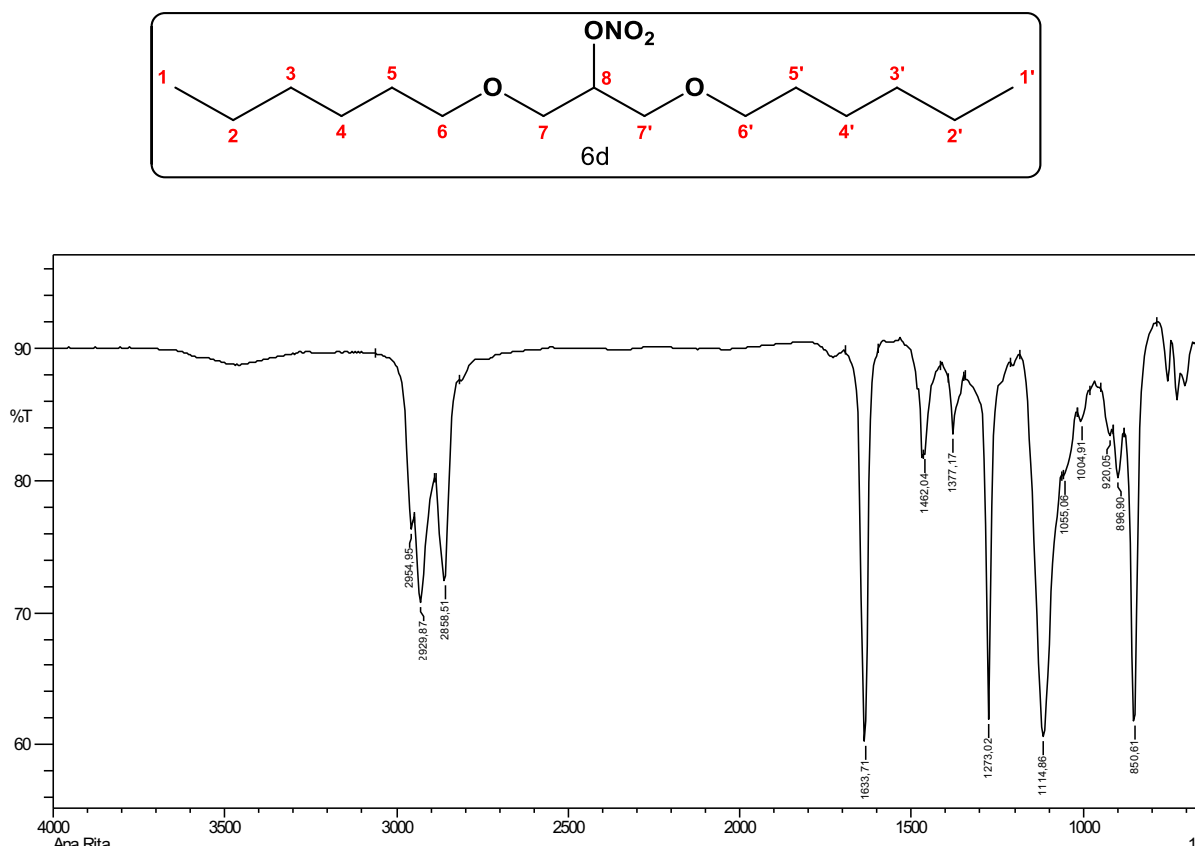
Espectro 19 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) do NDIPP (6c)

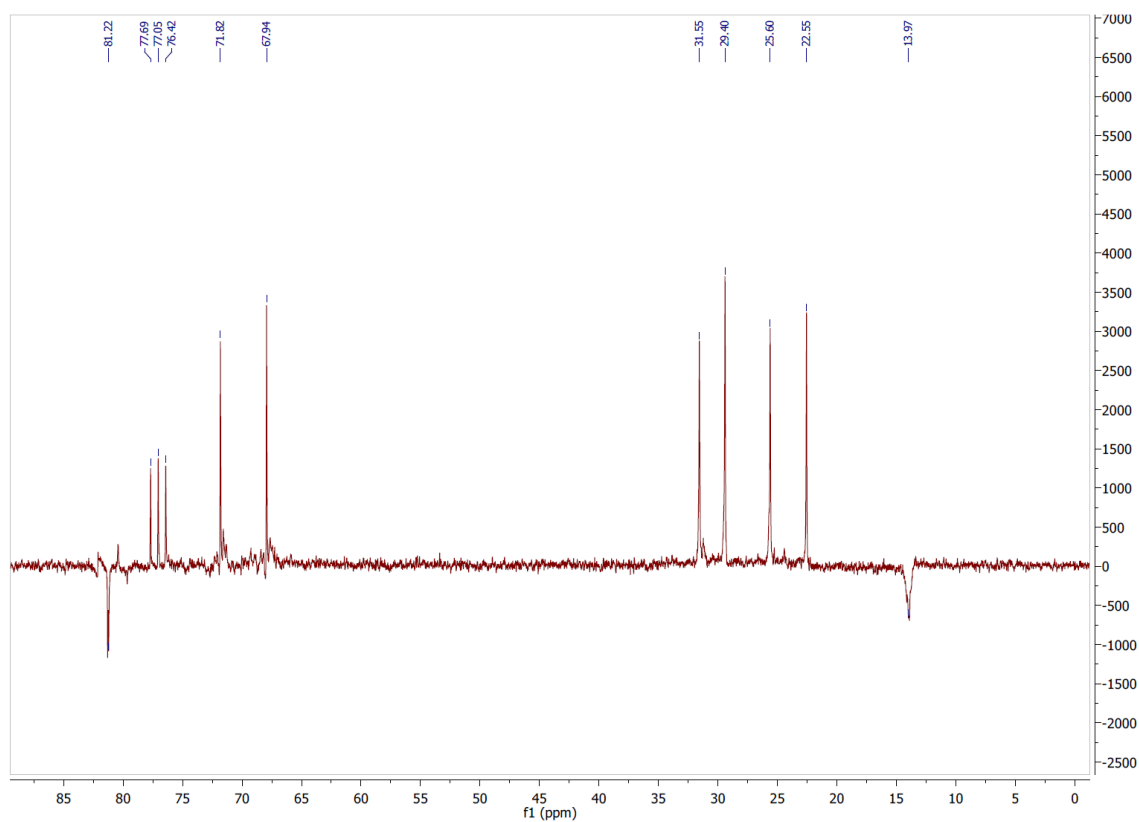
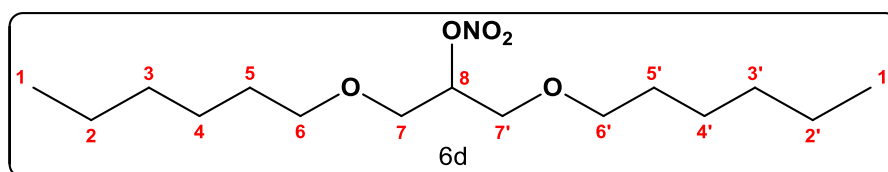
Espectro 20 - Espectro de IV (ATR) do NDIPP (6c)

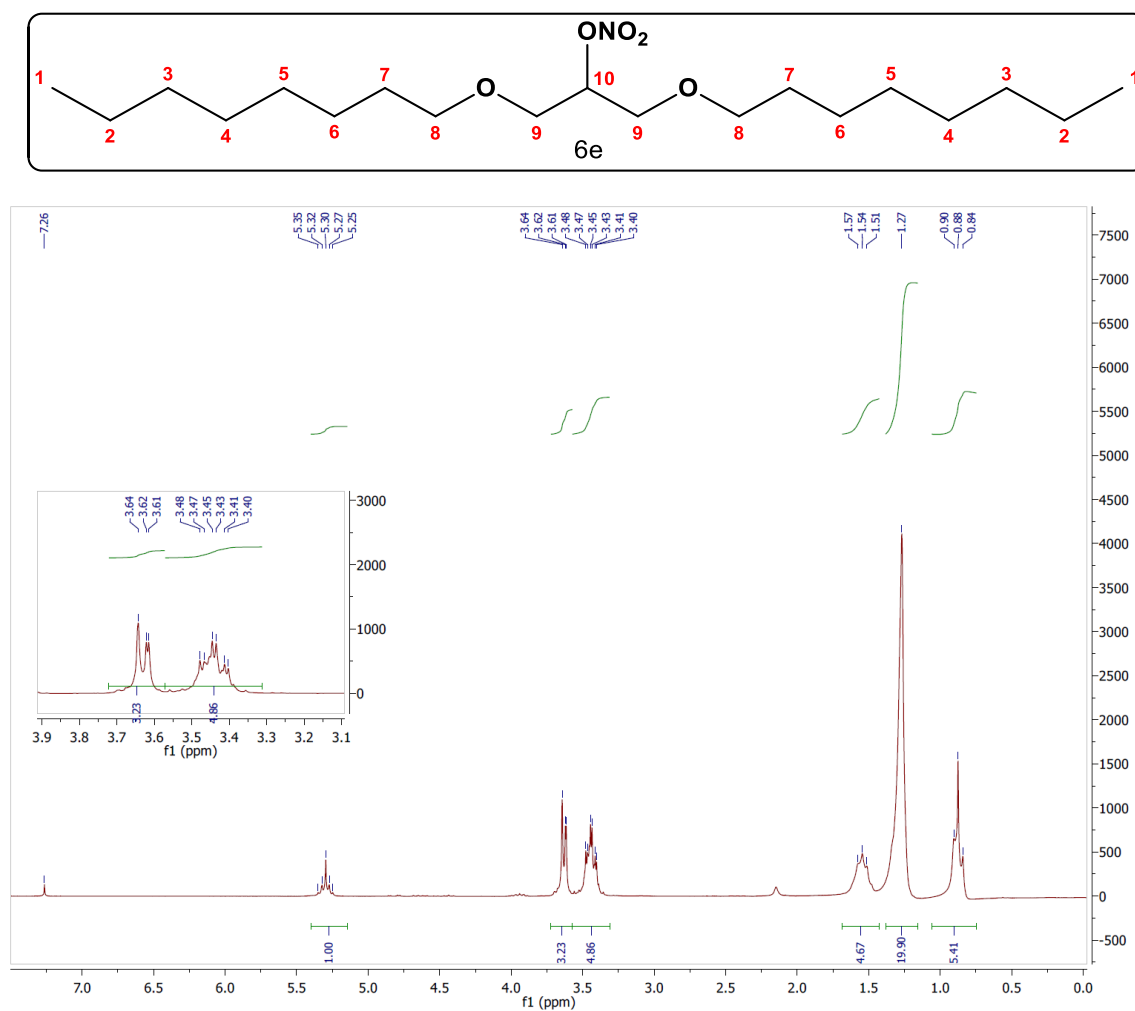


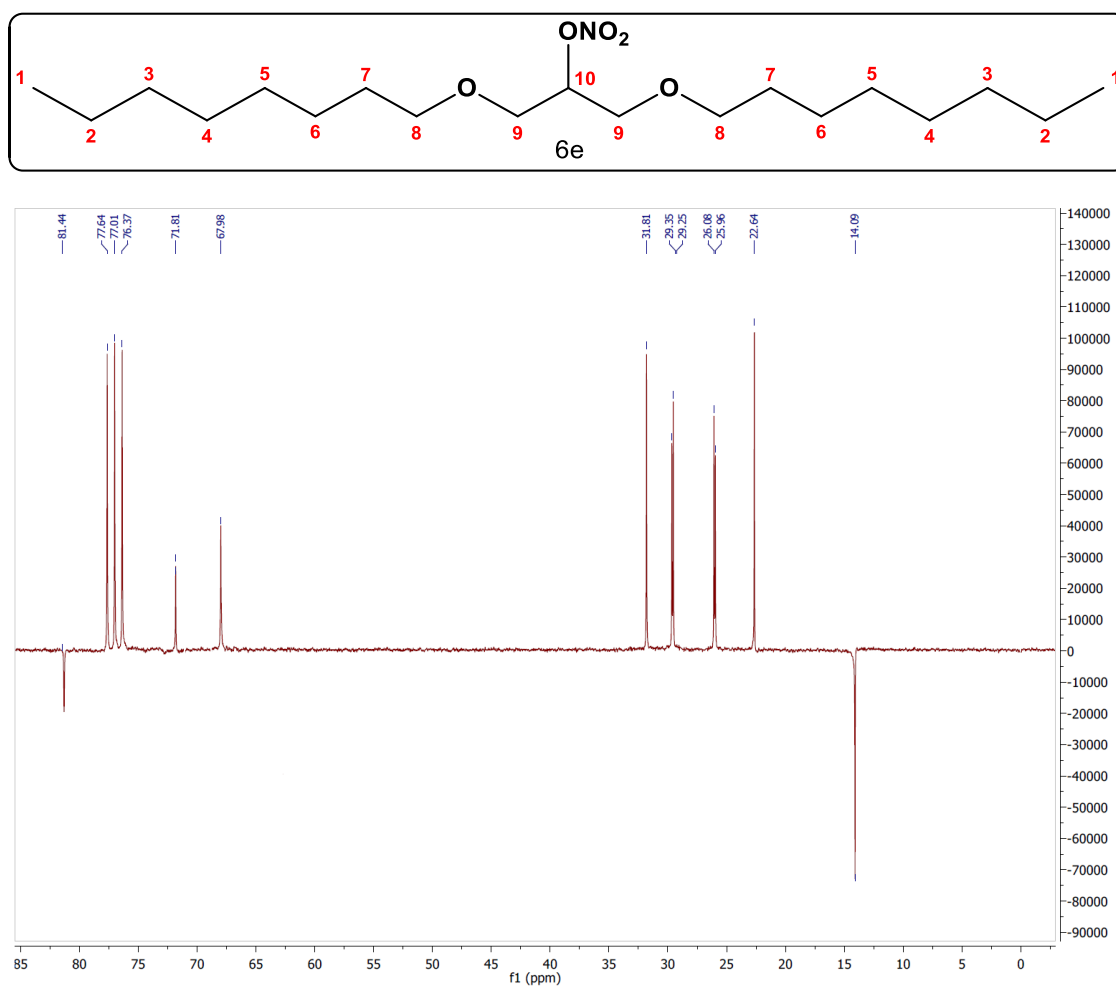
Espectro 21 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) do NDHP (6d).

Espectro 23 - Espectro de IV (ATR) do NDHP (6d).

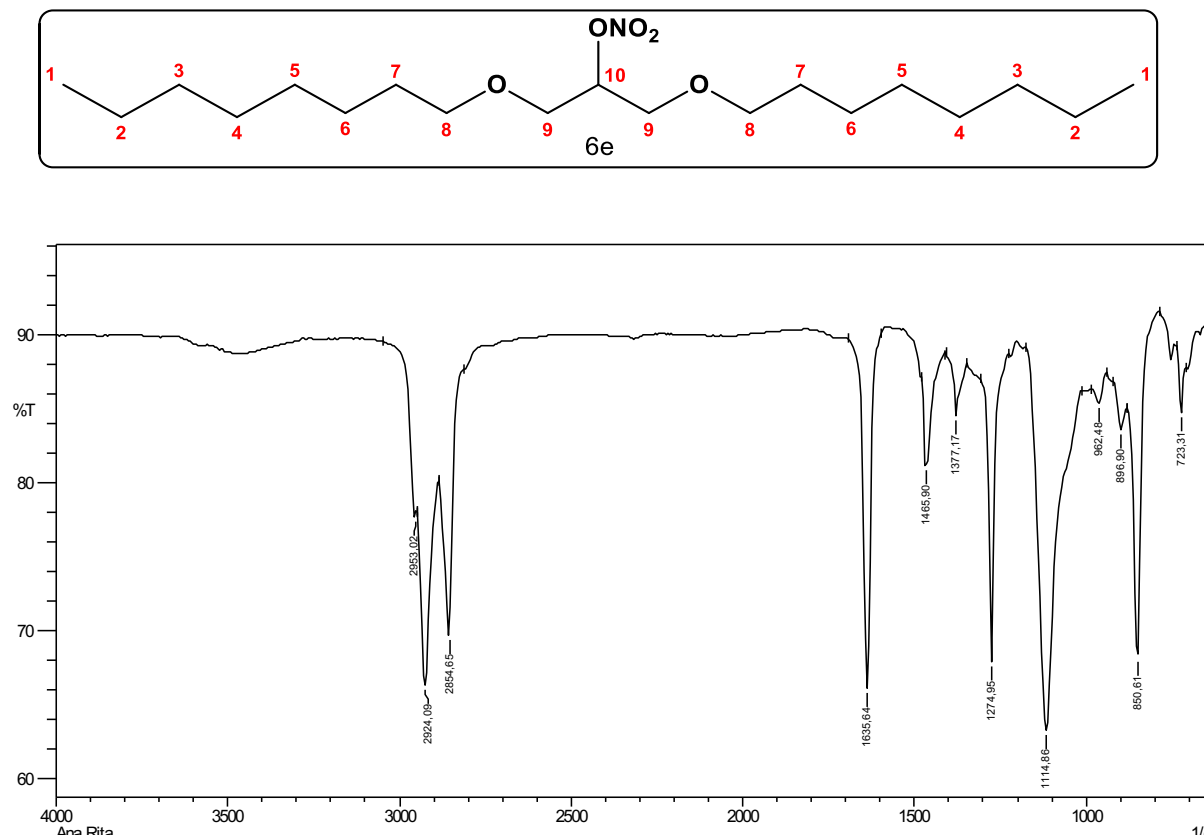


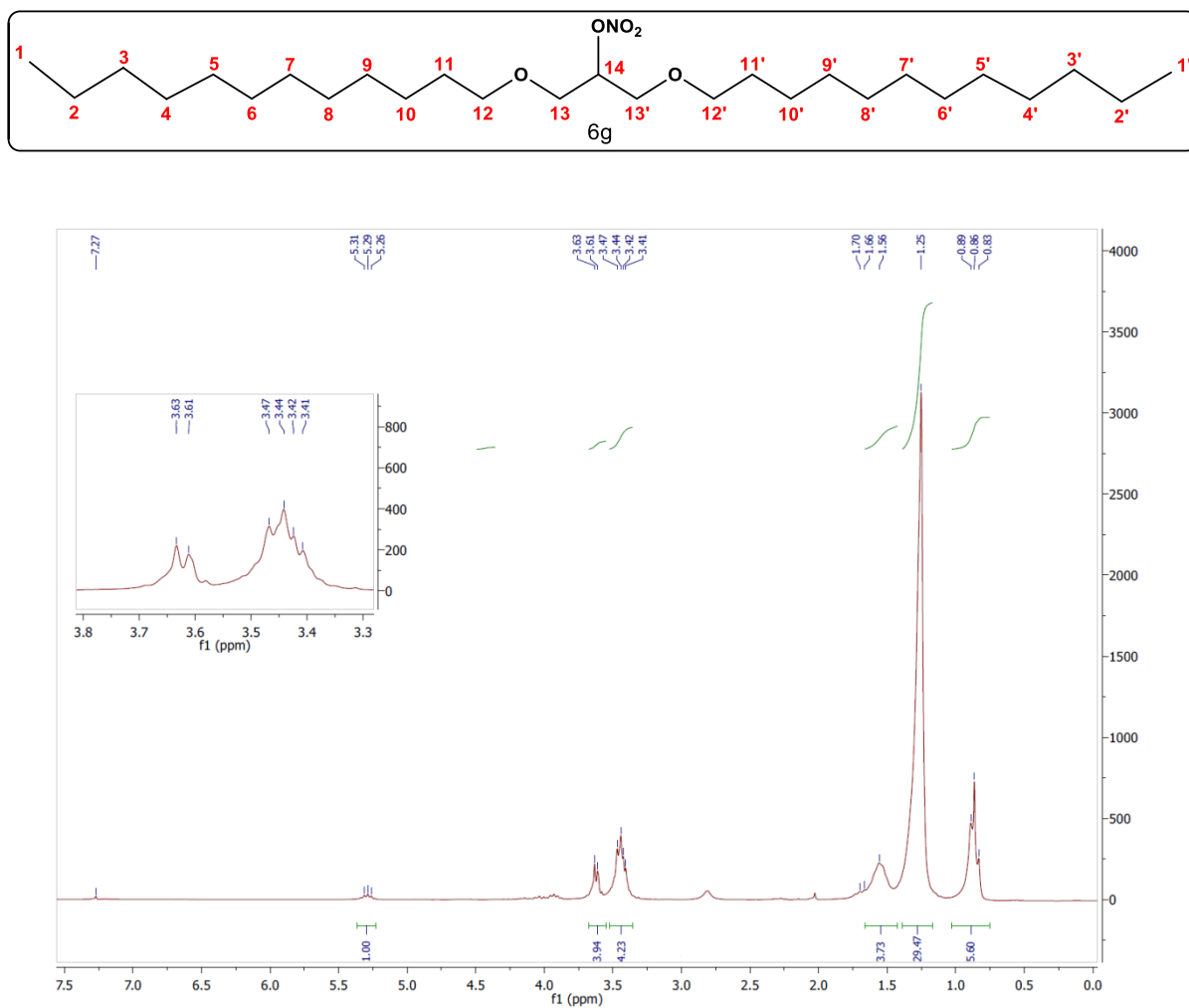
Espectro 24 - Espectro RMN ^{13}C (APT, CDCl_3 , 50 MHz) do NDHP (6e)

Espectro 22 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) do NDOP (6e).

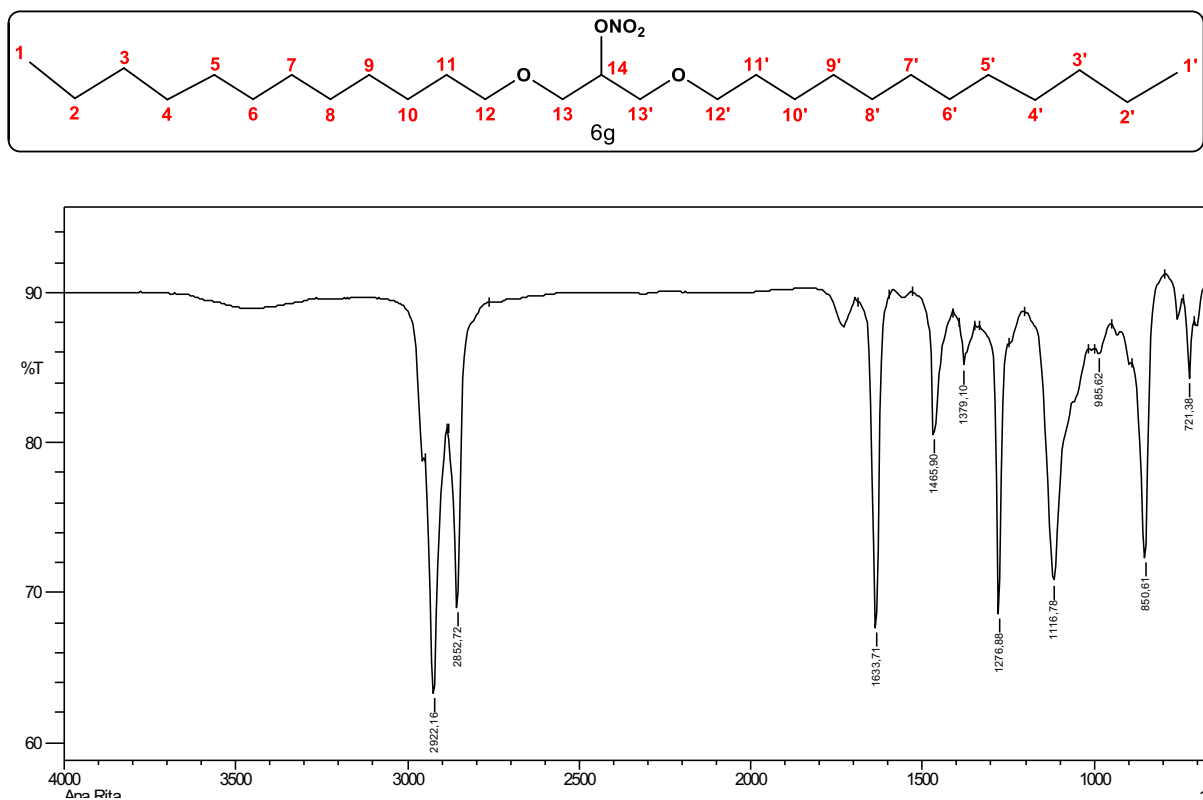
Espectro 23 - Espectro RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) do NDOP (6e).

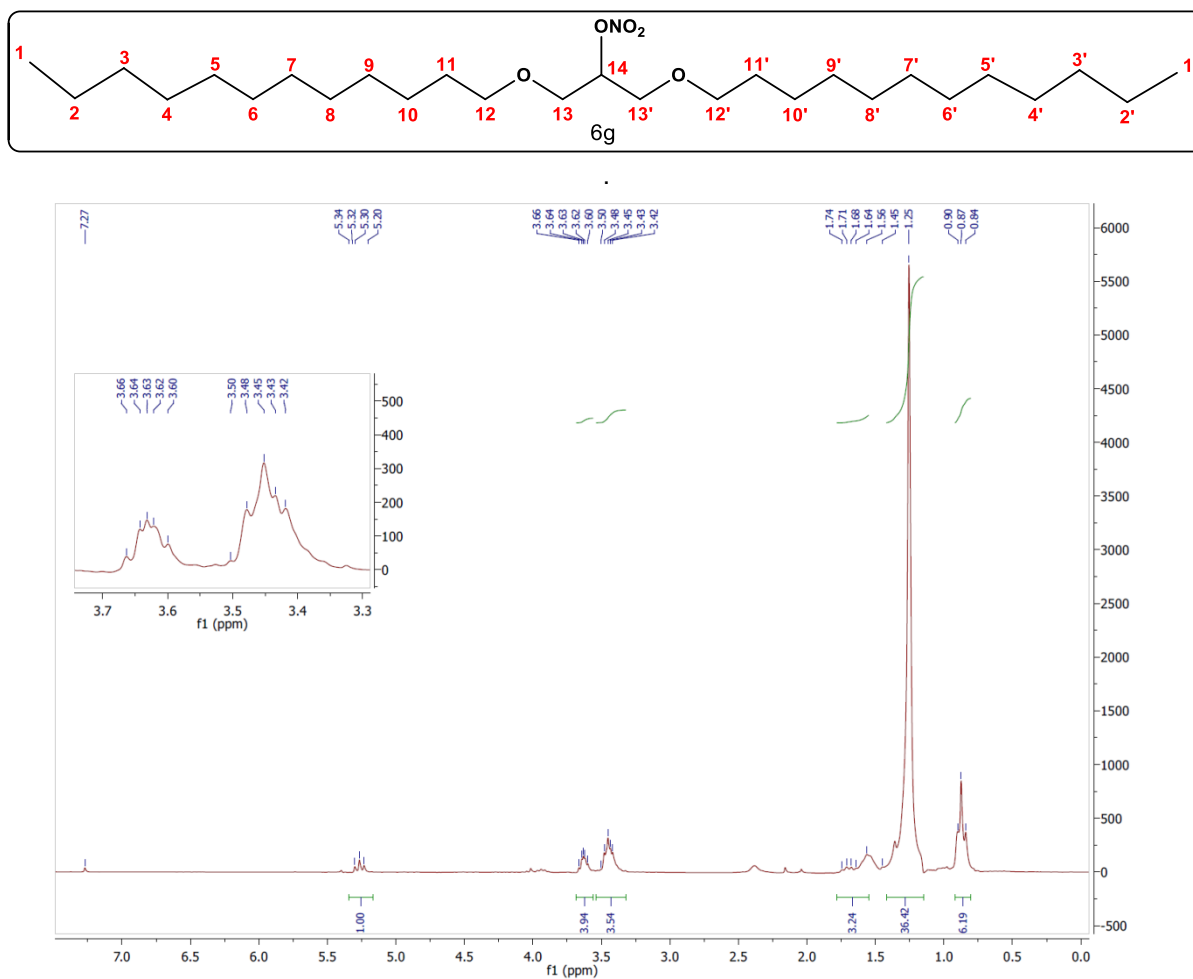
Espectro 24 - Espectro de IV (ATR) do NDOP (6e).



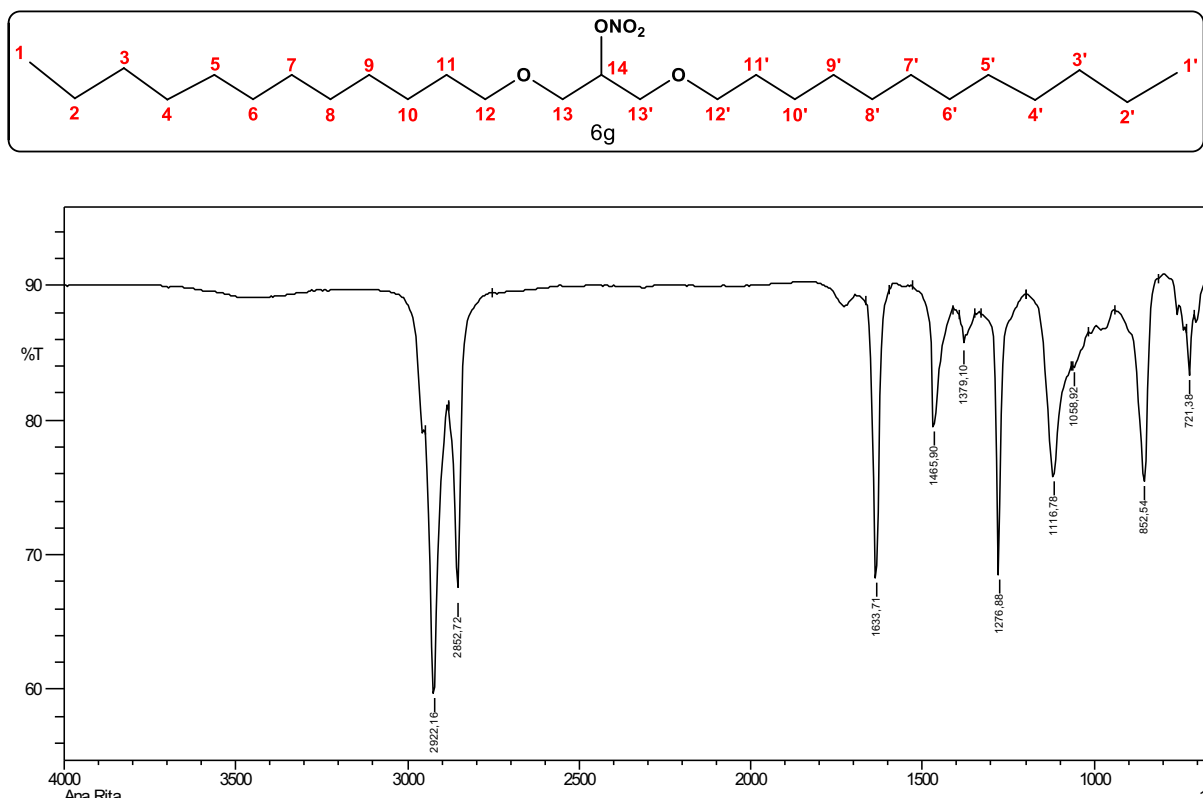
Espectro 25 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) do NDDP (6f).

Espectro 26 - Espectro de IV (ATR) do NDDP (6f).

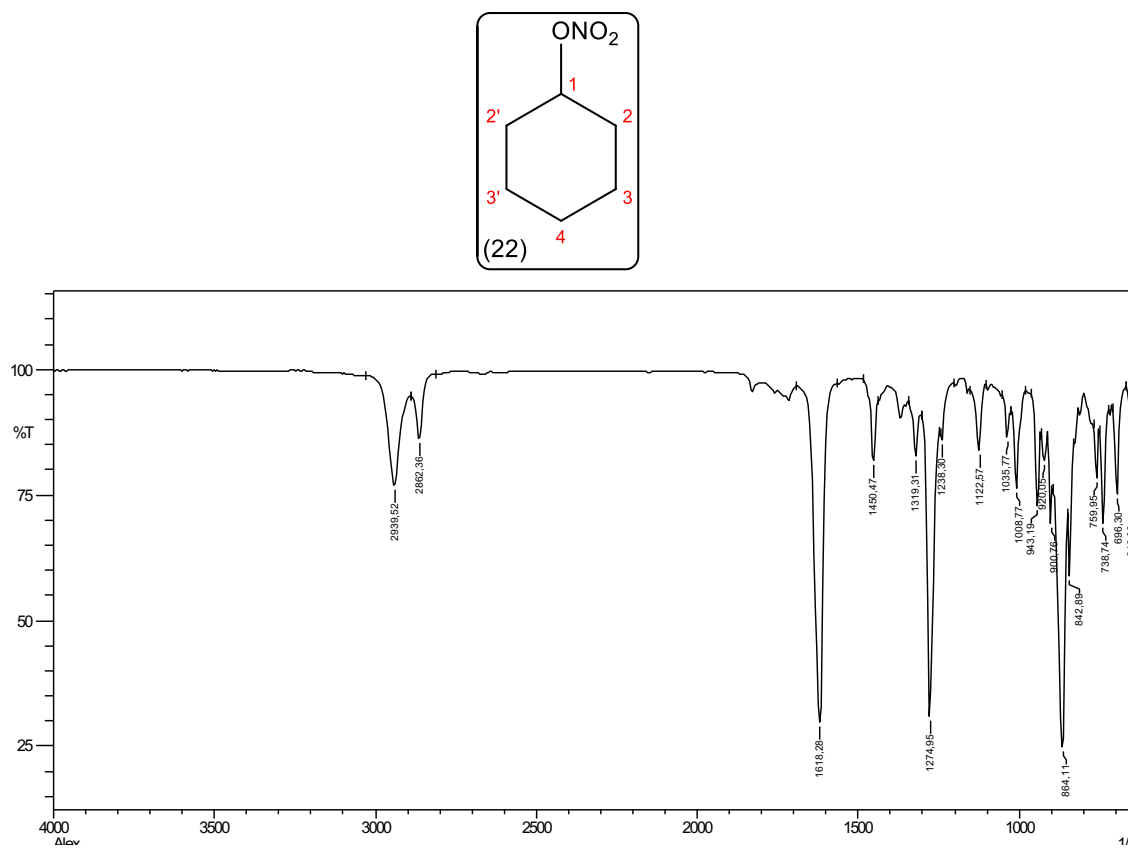


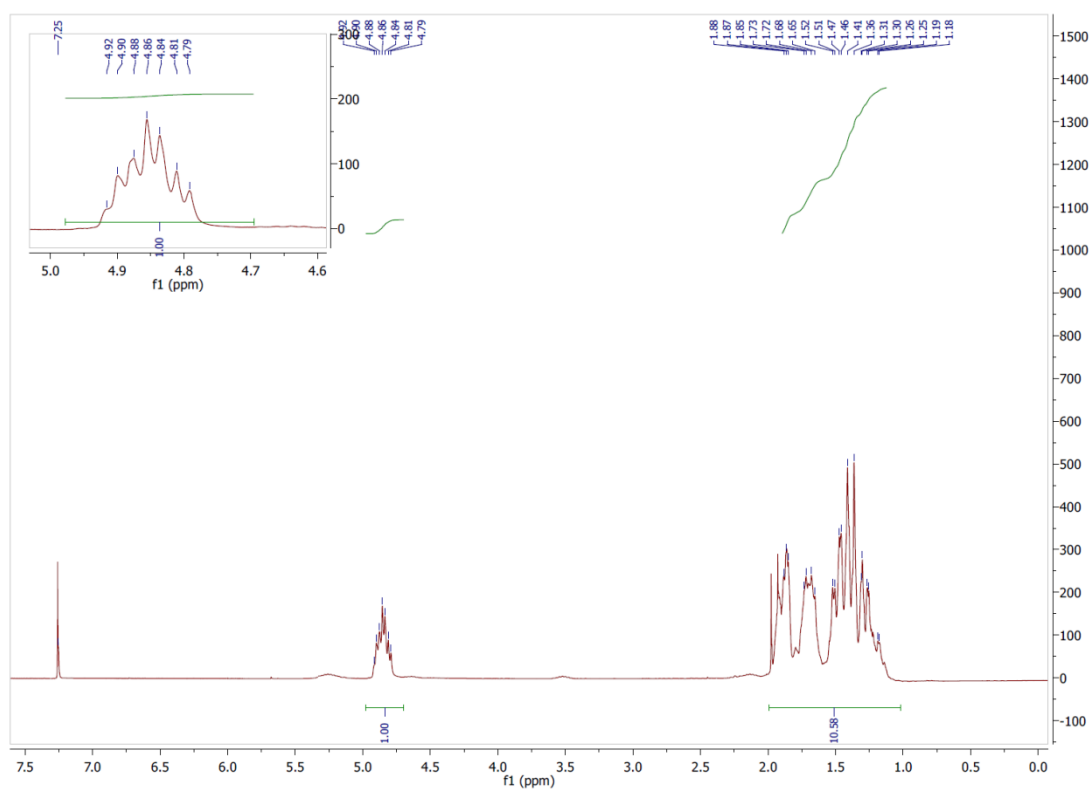
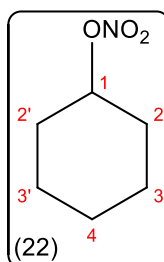
Espectro 27 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) do NDDDP (6g)

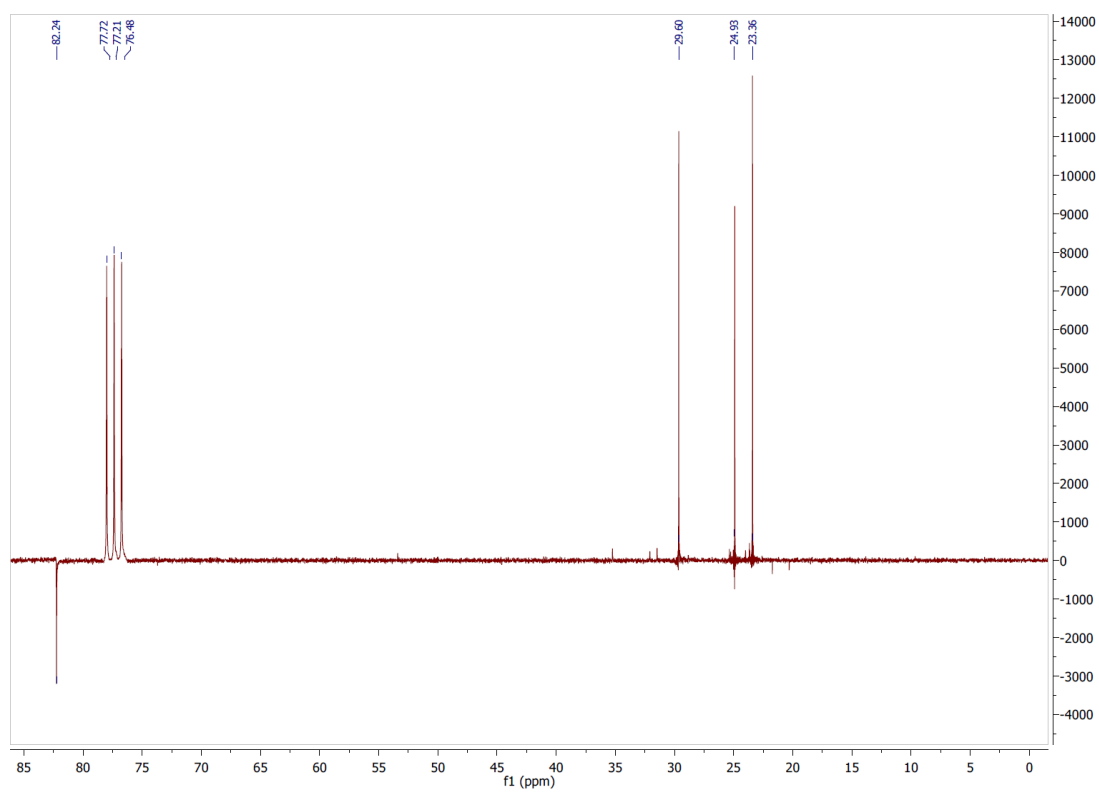
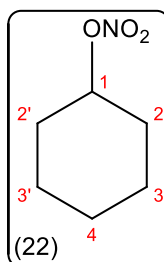
Espectro 28 - Espectro de IV (ATR) do NDDDP (6g).



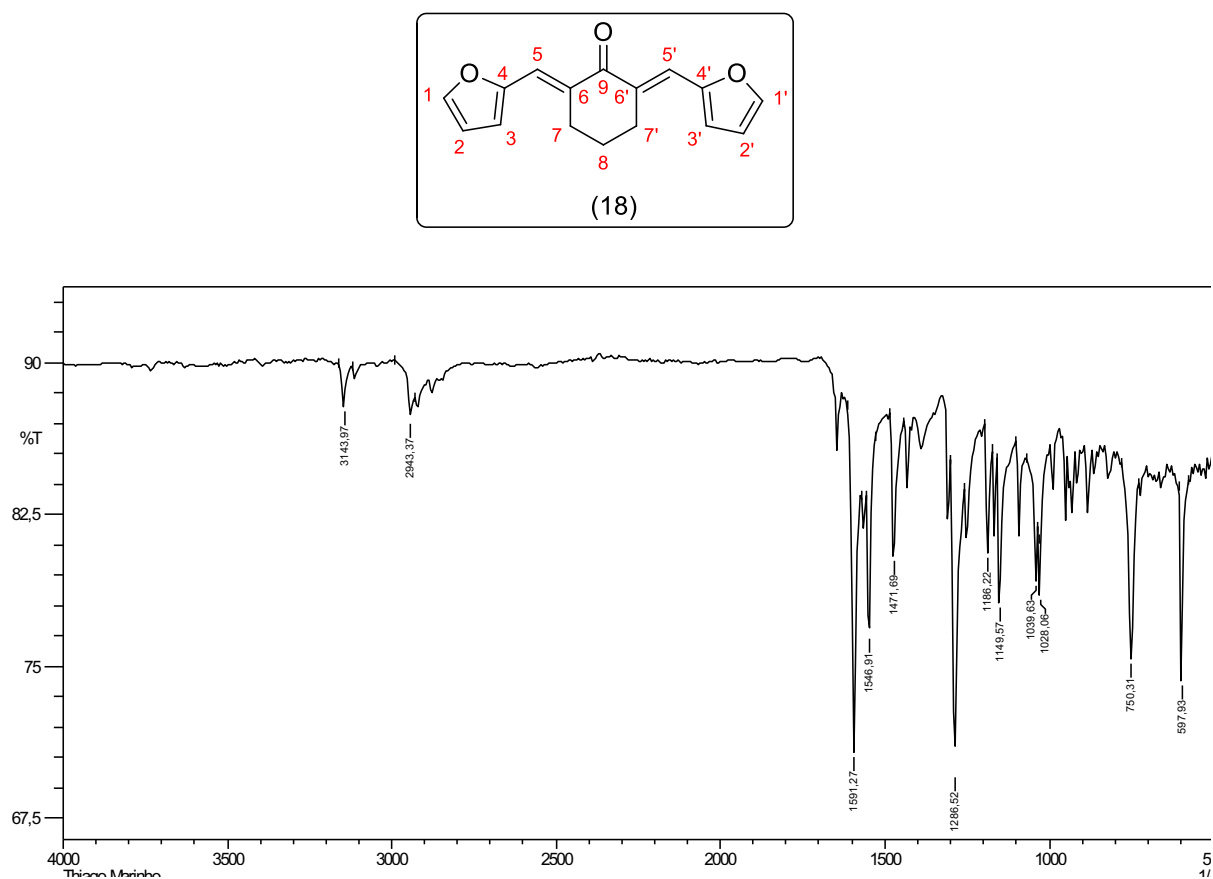
Espectro 29 - Espectro de IV (ATR) do NCH (22).

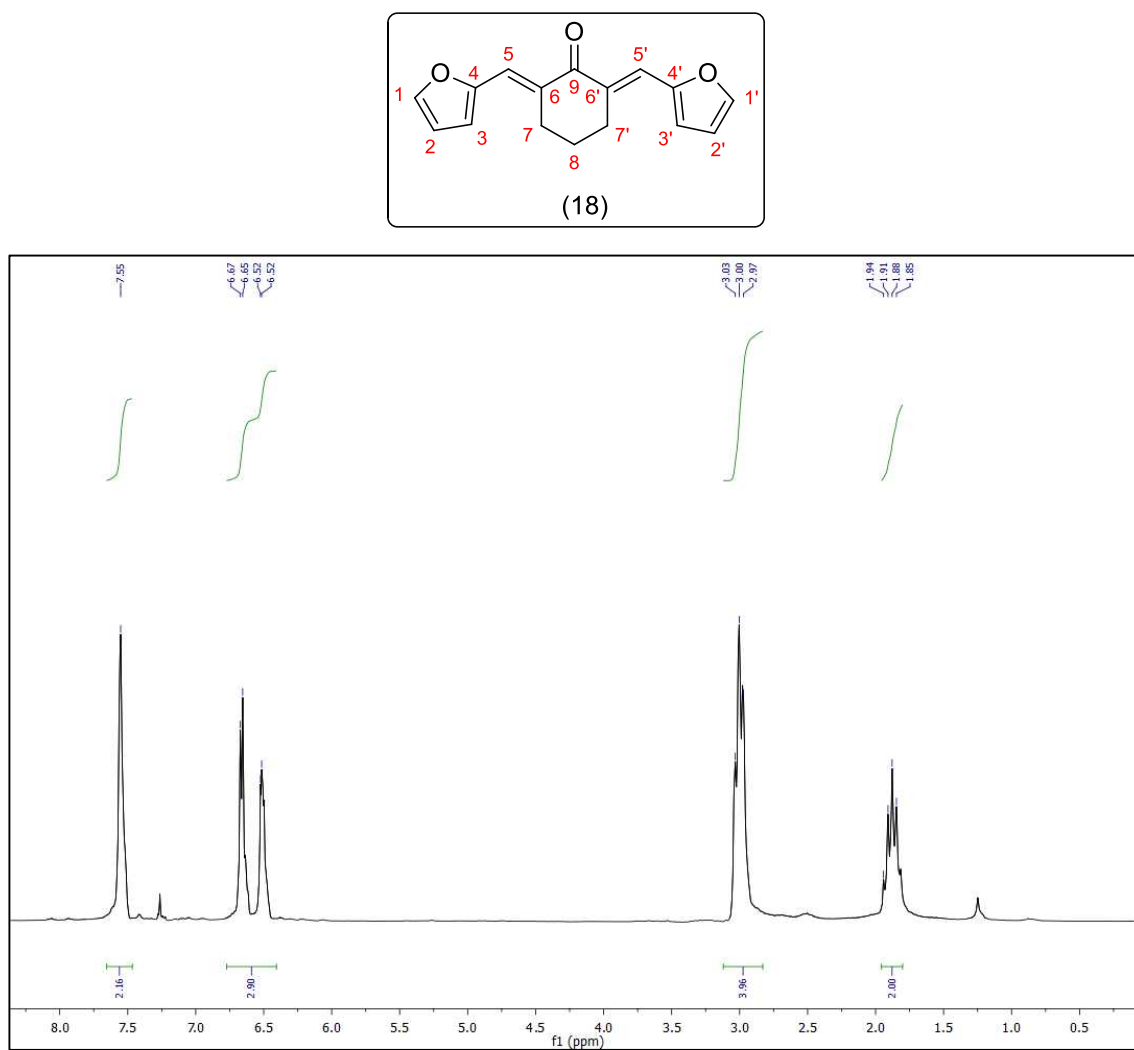


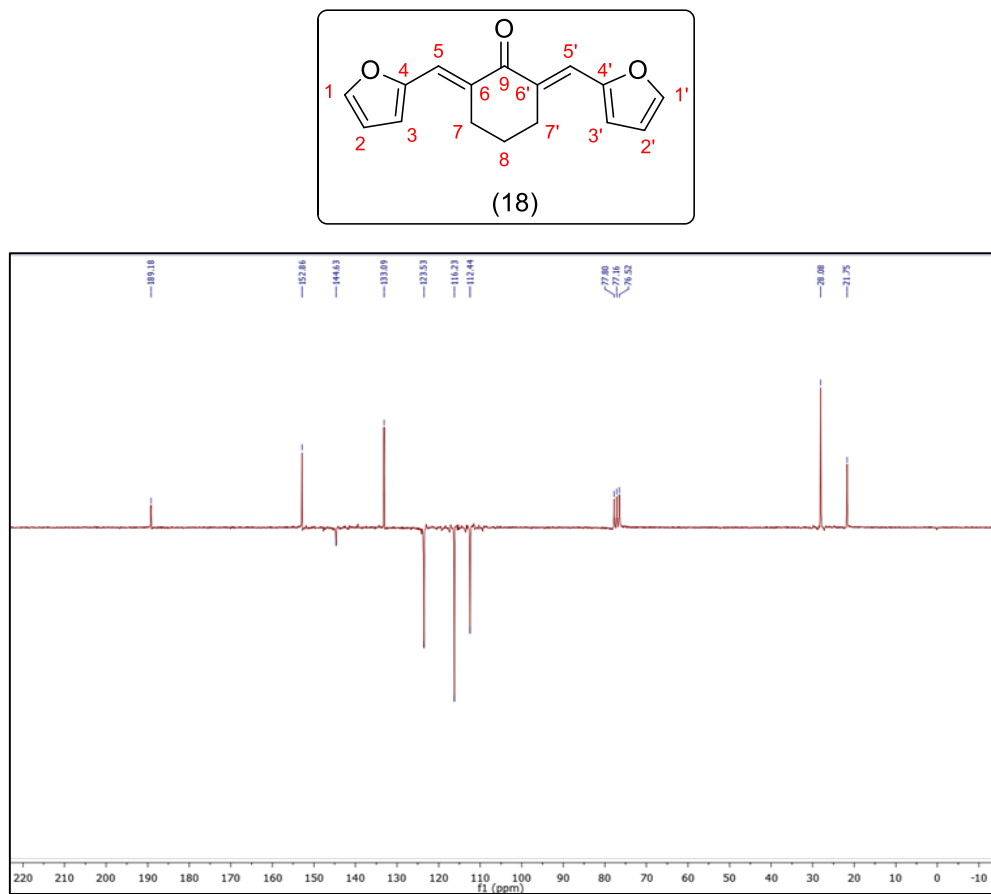
Espectro 30 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) do NCH (22).

Espectro 31 - Espectro RMN ^{13}C (CDCl_3 50 MHz) do NCH (22).

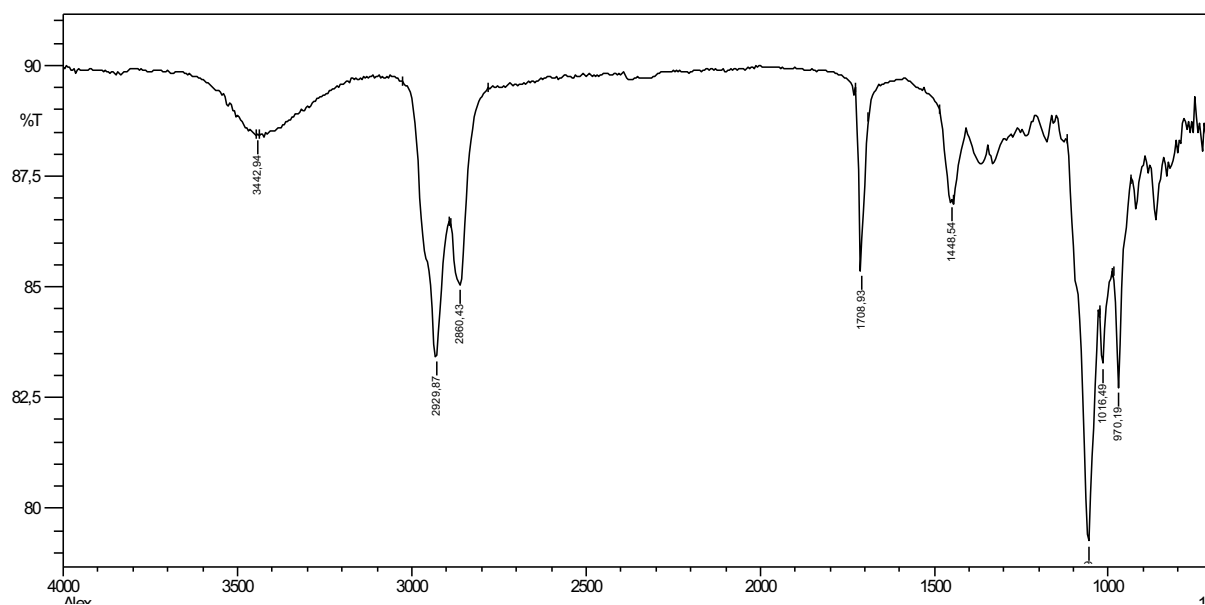
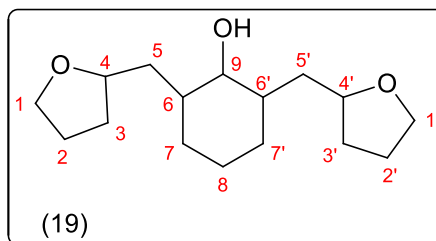
Espectro 32 - Espectro de IV (KBr) do FCHD (18).



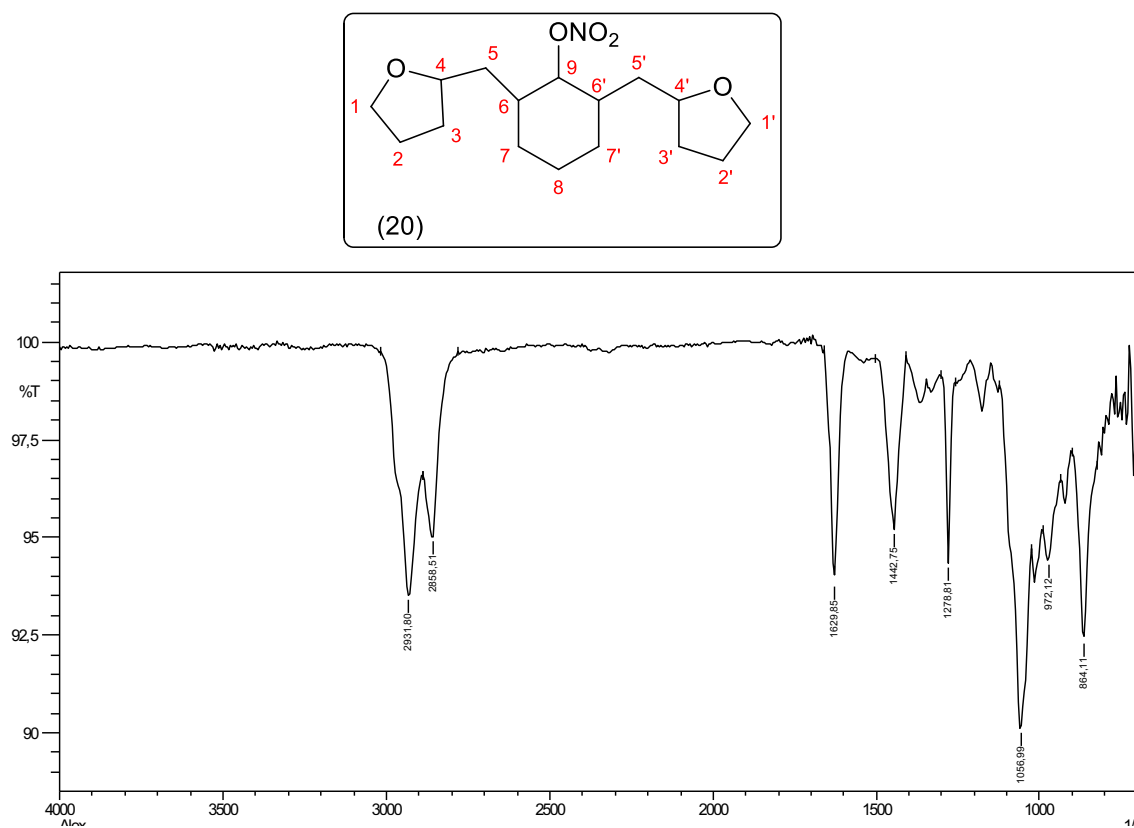
Espectro 33 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) do FCHD (18).

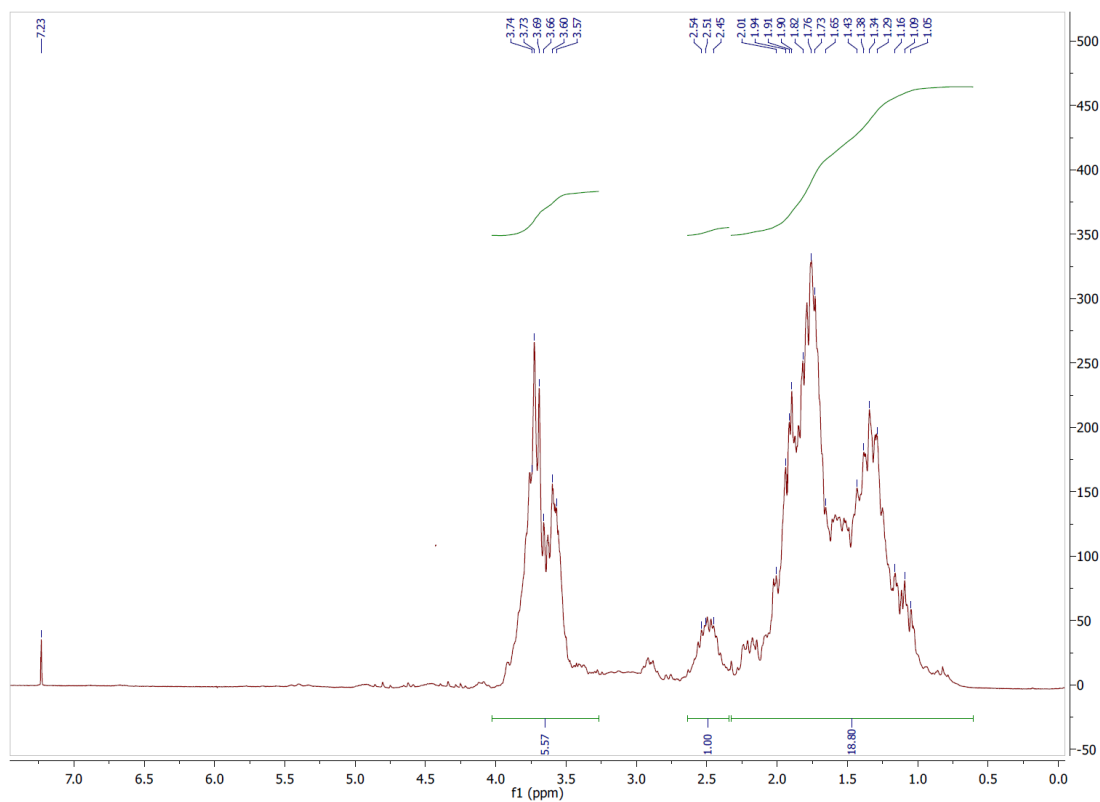
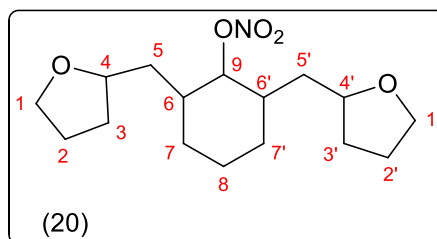
Espectro 34 - Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) do FCHD (18).

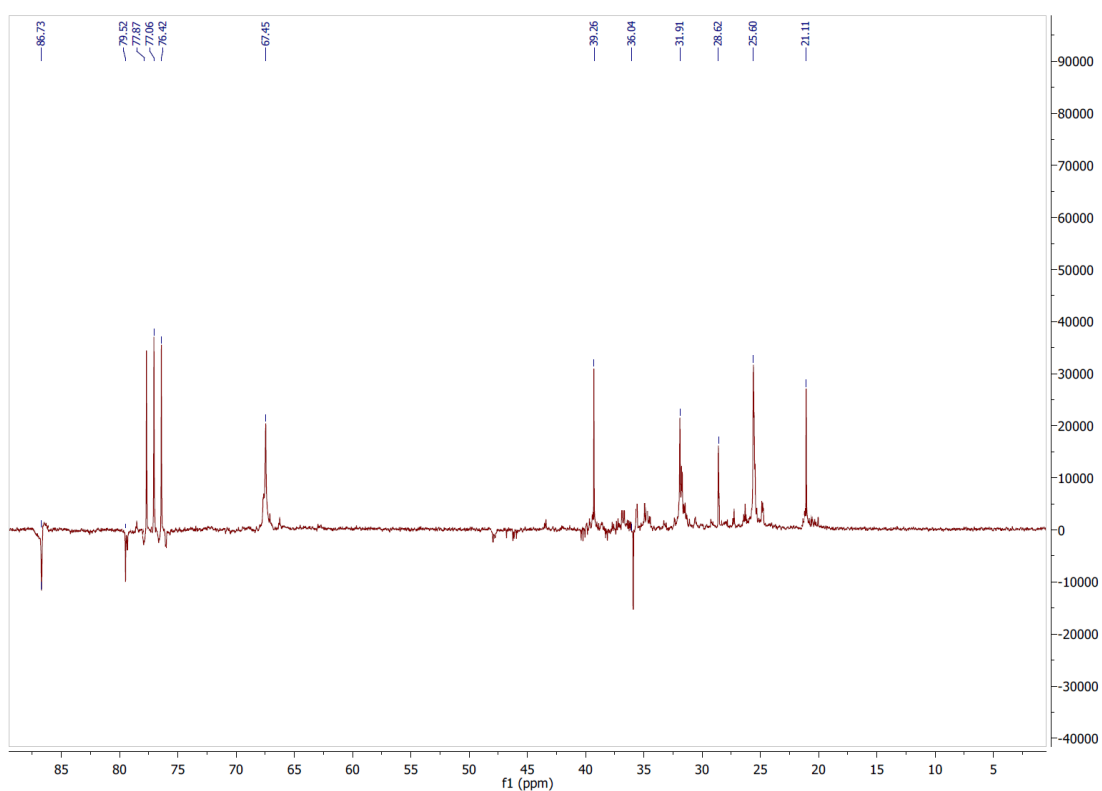
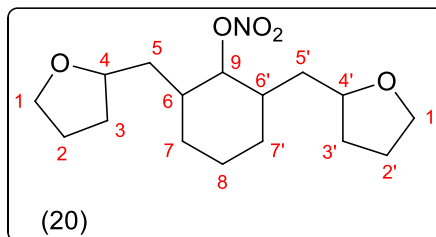
Espectro 35 - Espectro de IV (ATR) do RFCHD (19).



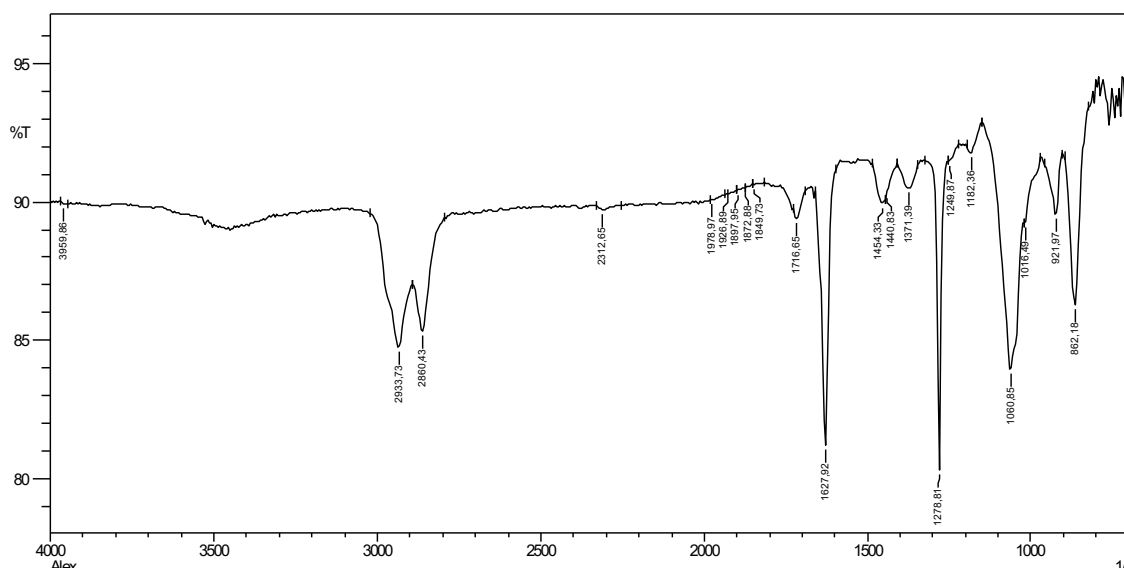
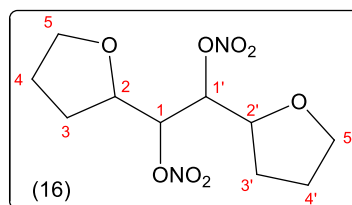
Espectro 36 - Espectro de IV (ATR) do NFCHD (20).

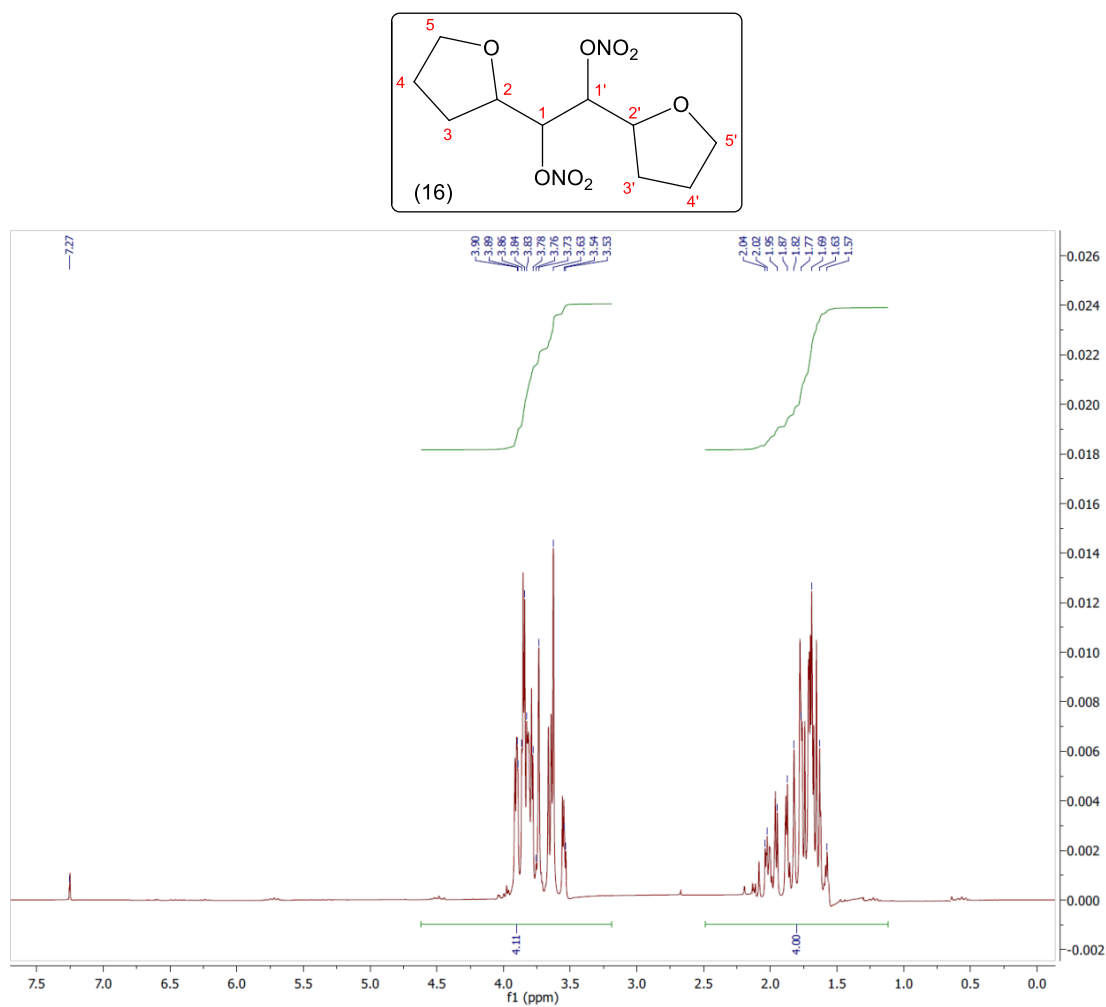


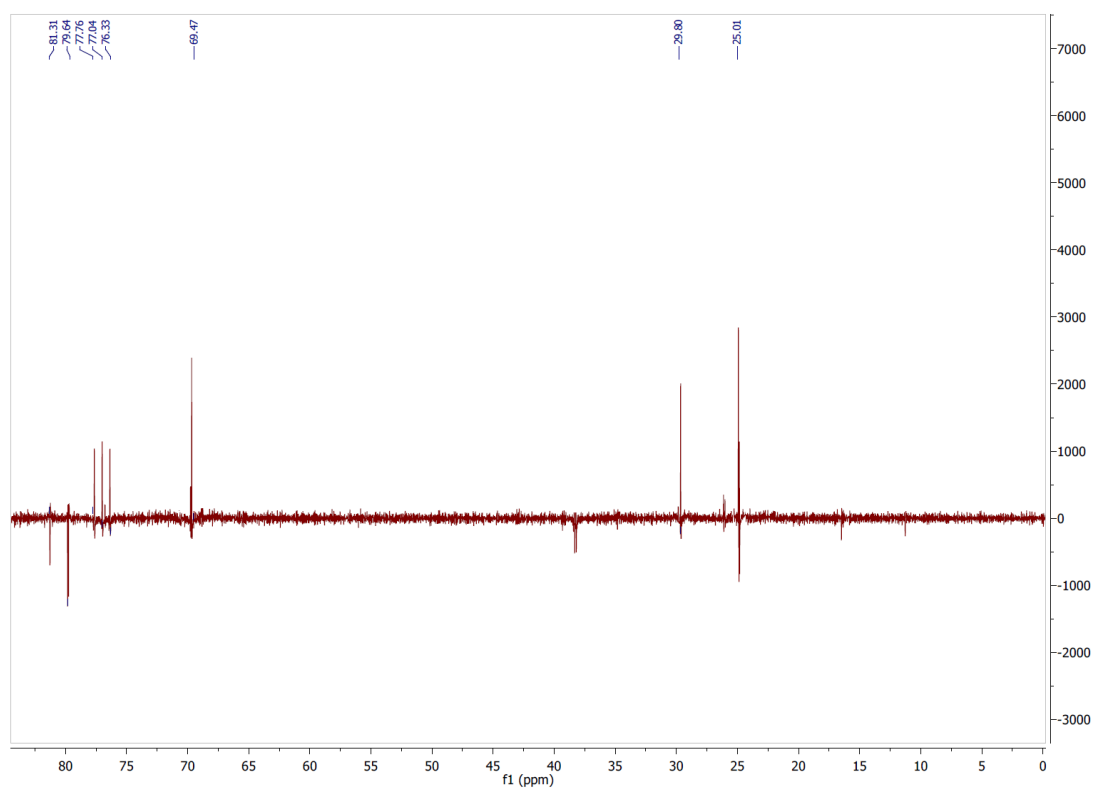
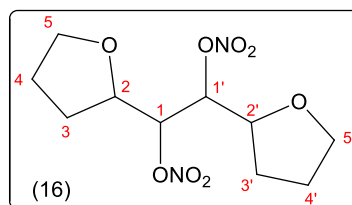
Espectro 37 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) do NFCHD (20).

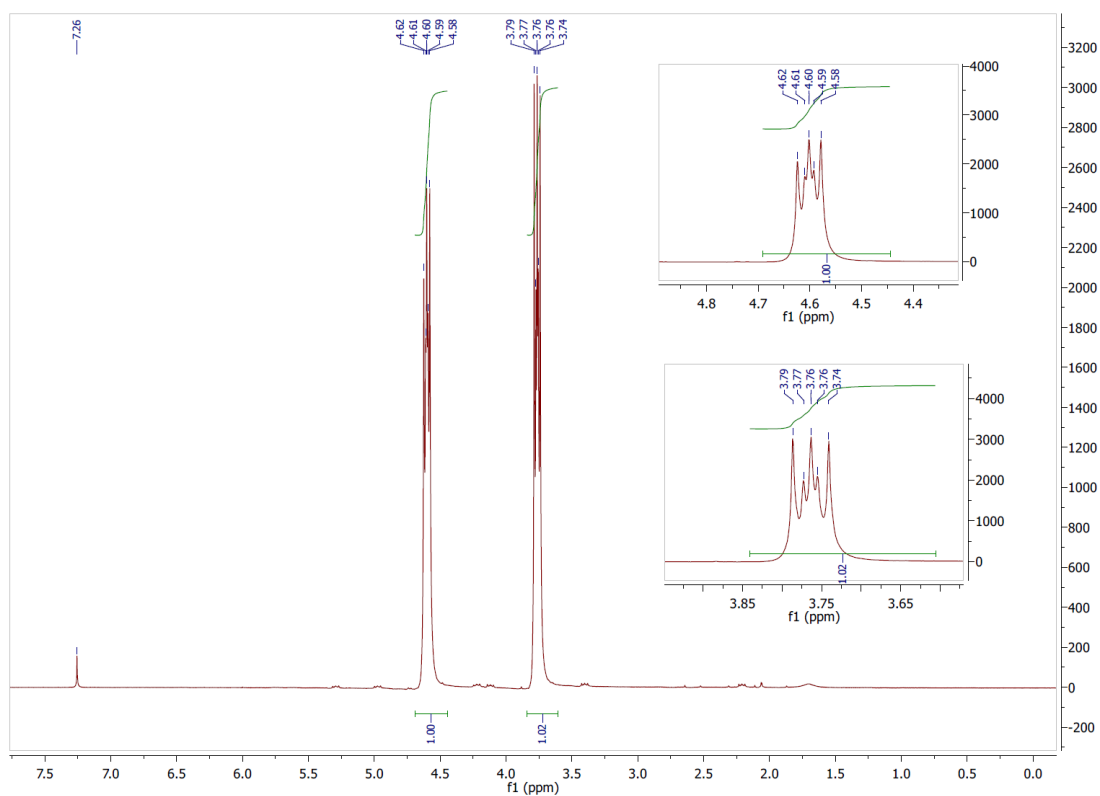
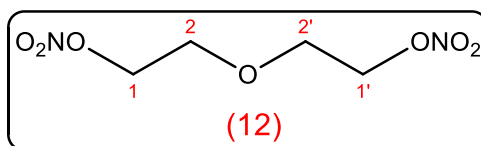
Espectro 38 - Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) do NFCHD (20).

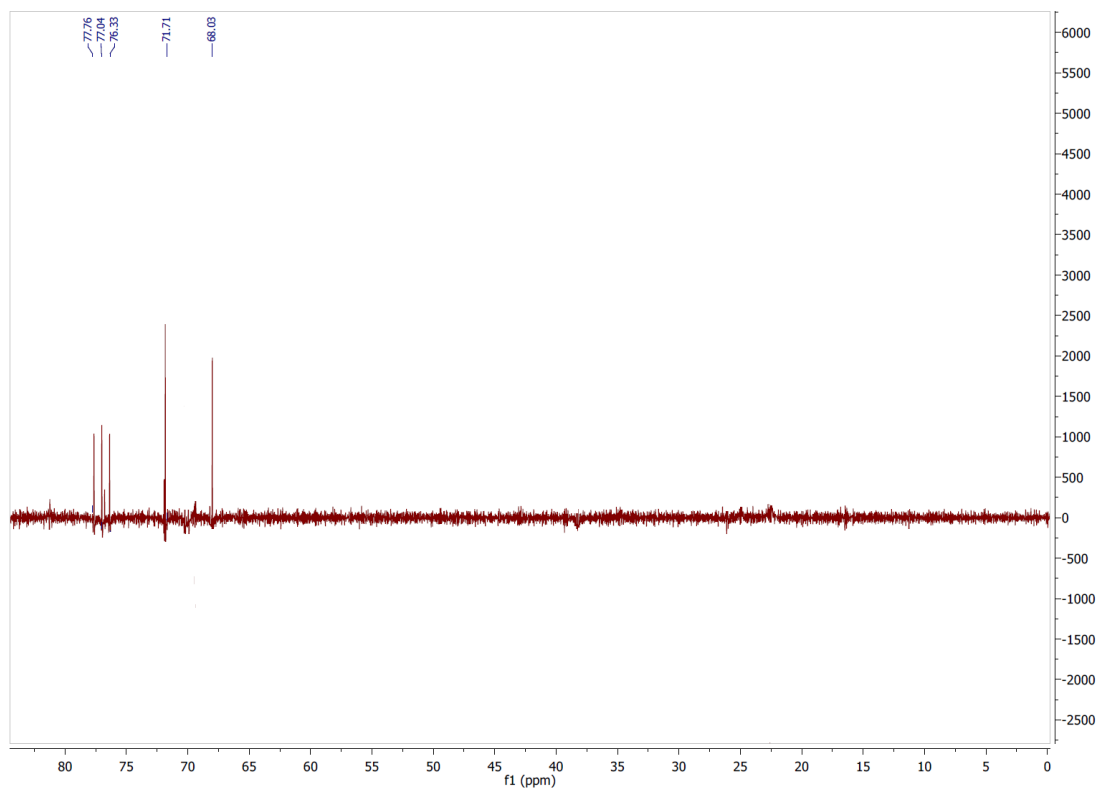
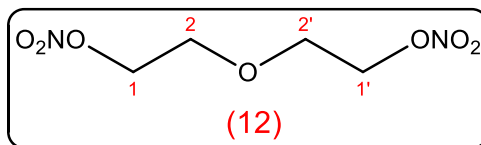
Espectro 39 - Espectro de IV (ATR) do Bis-NTHF (16).

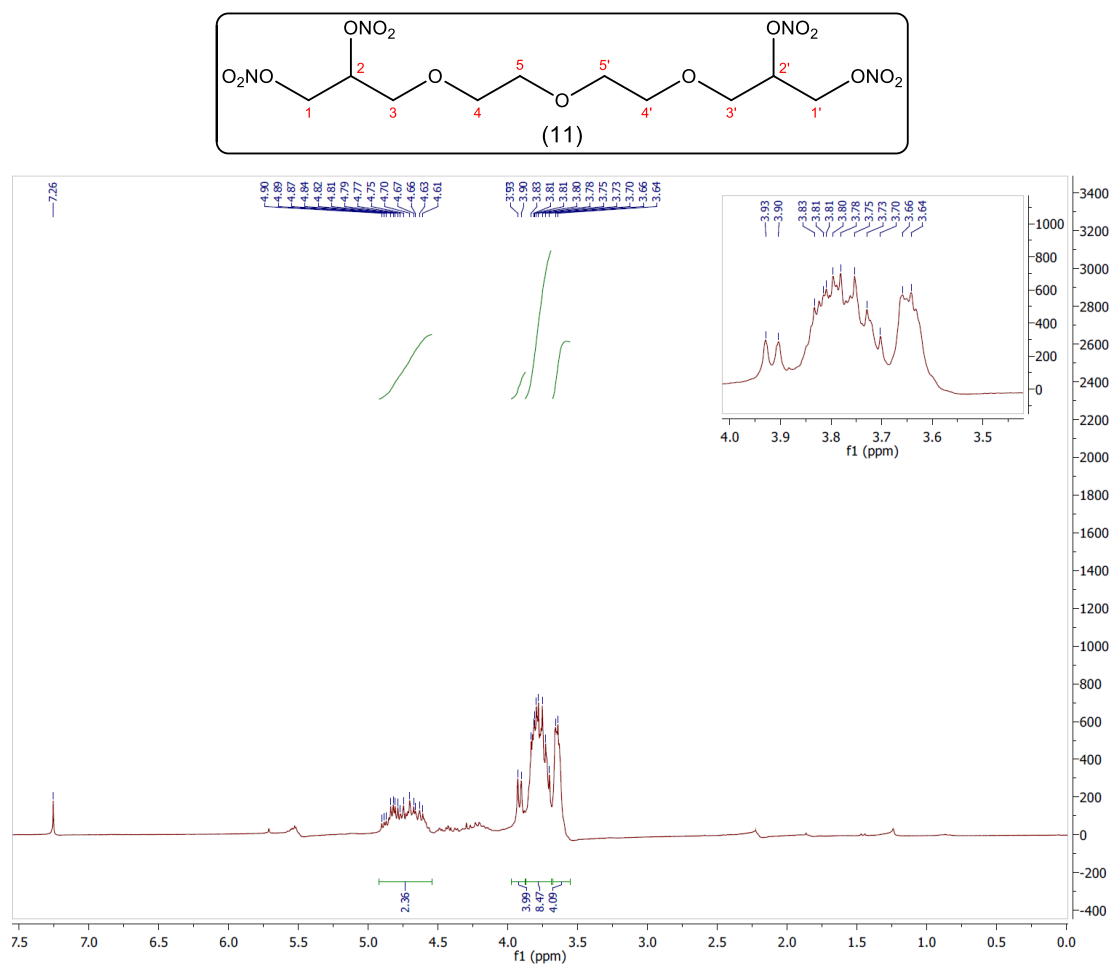


Espectro 40 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) do Bis-NTHF (16).

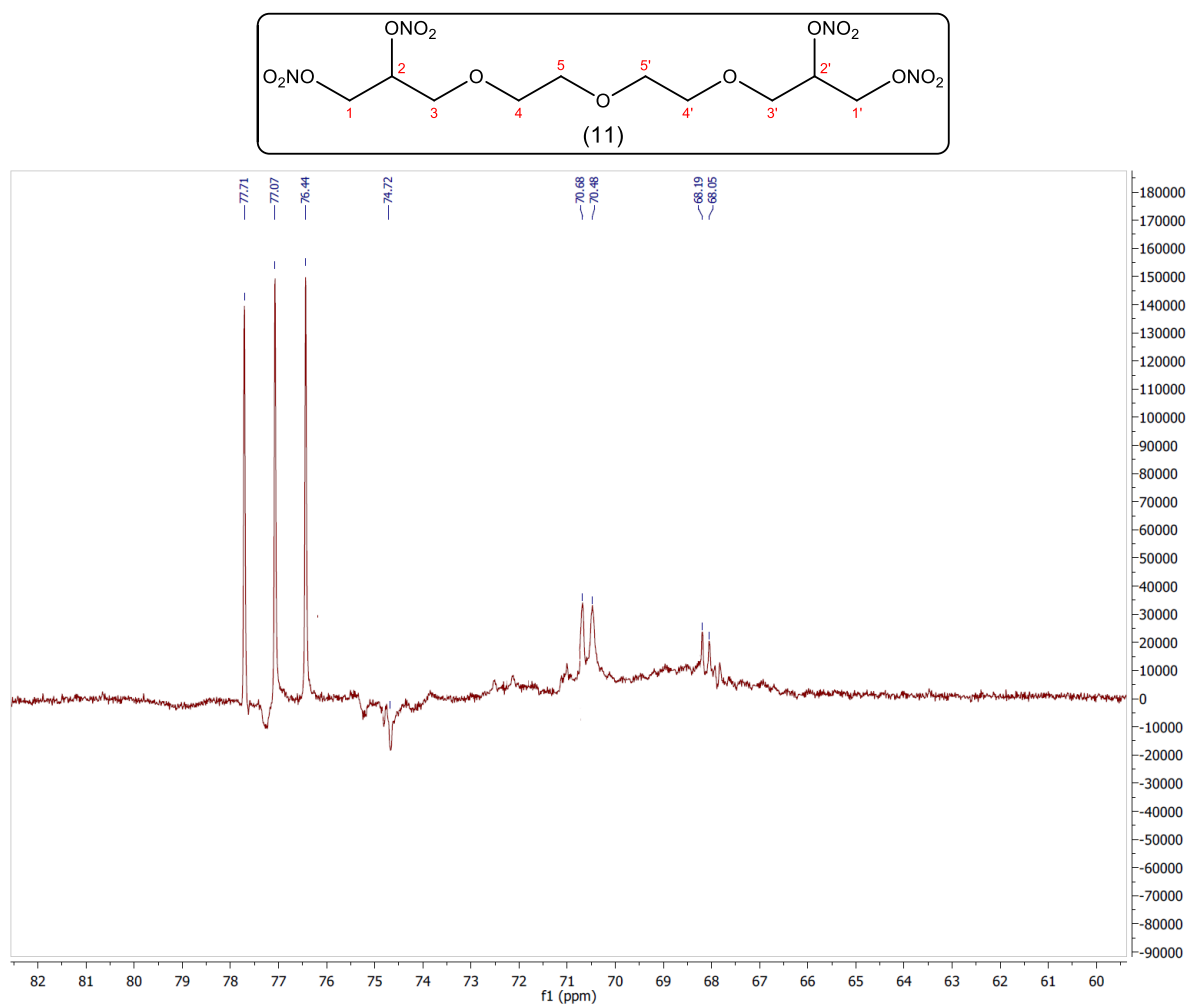
Espectro 41 - Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) do Bis-NTHF (16).

Espectro 42 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) do NDEG (12)

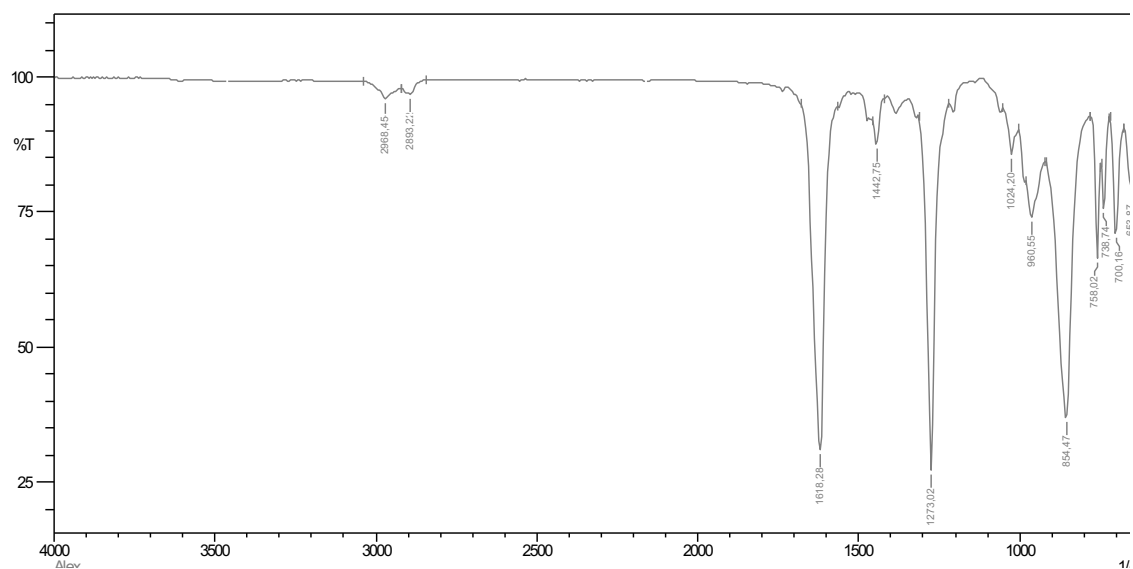
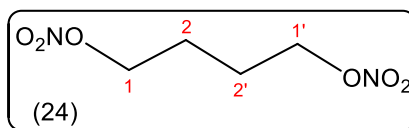
Espectro 43 - Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) do NDEG (12)

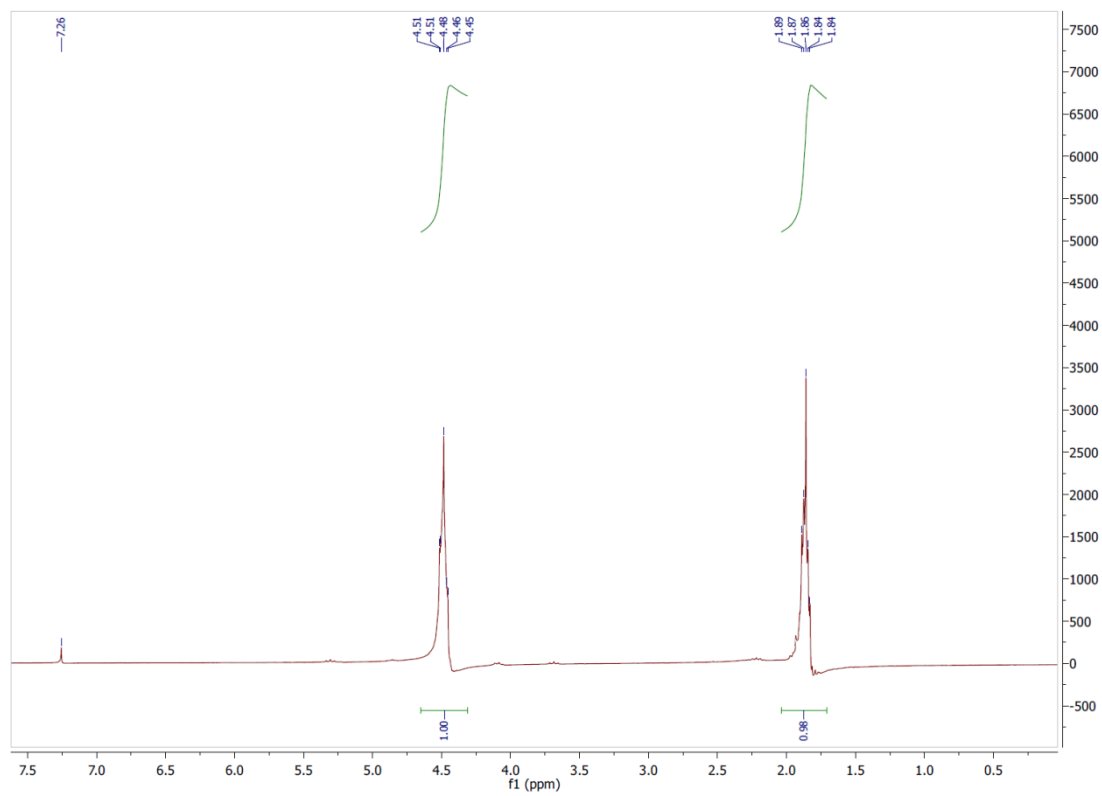
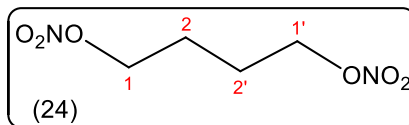
Espectro 44 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) do TNDEG (11)

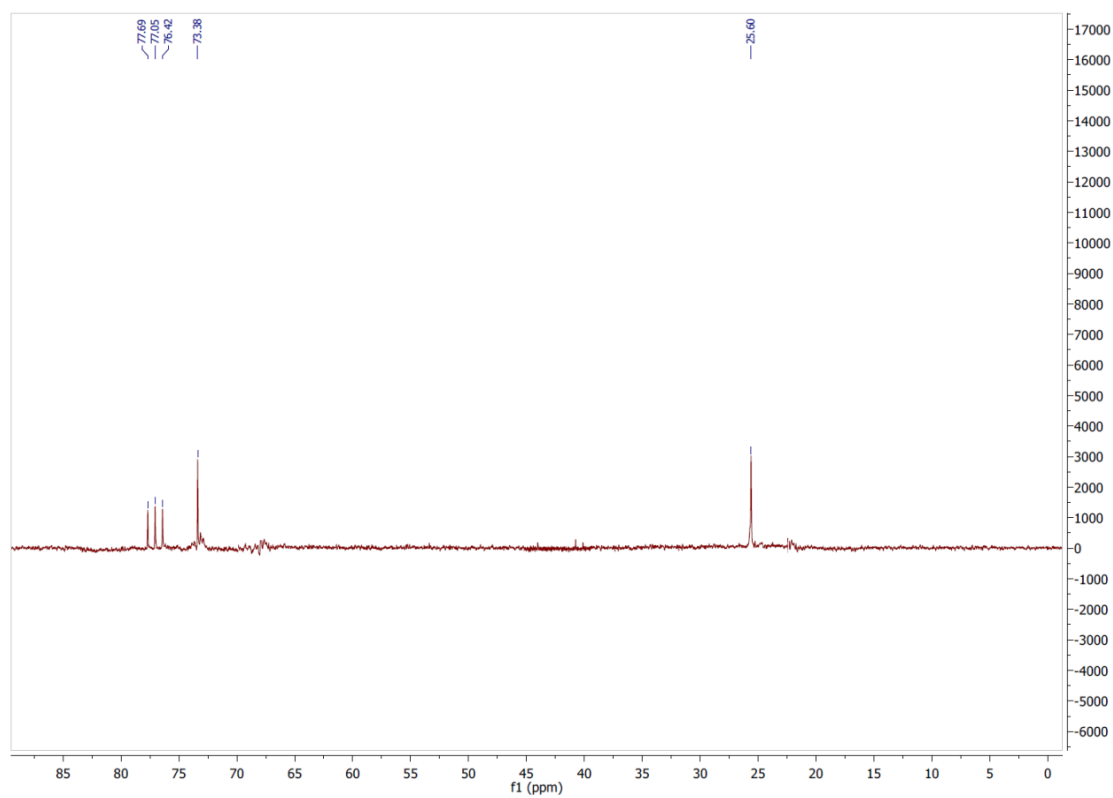
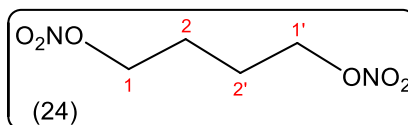
Espectro 45 - Espectro de RMN 13C (CDCl3, 50 MHz) do TNDEG (11)

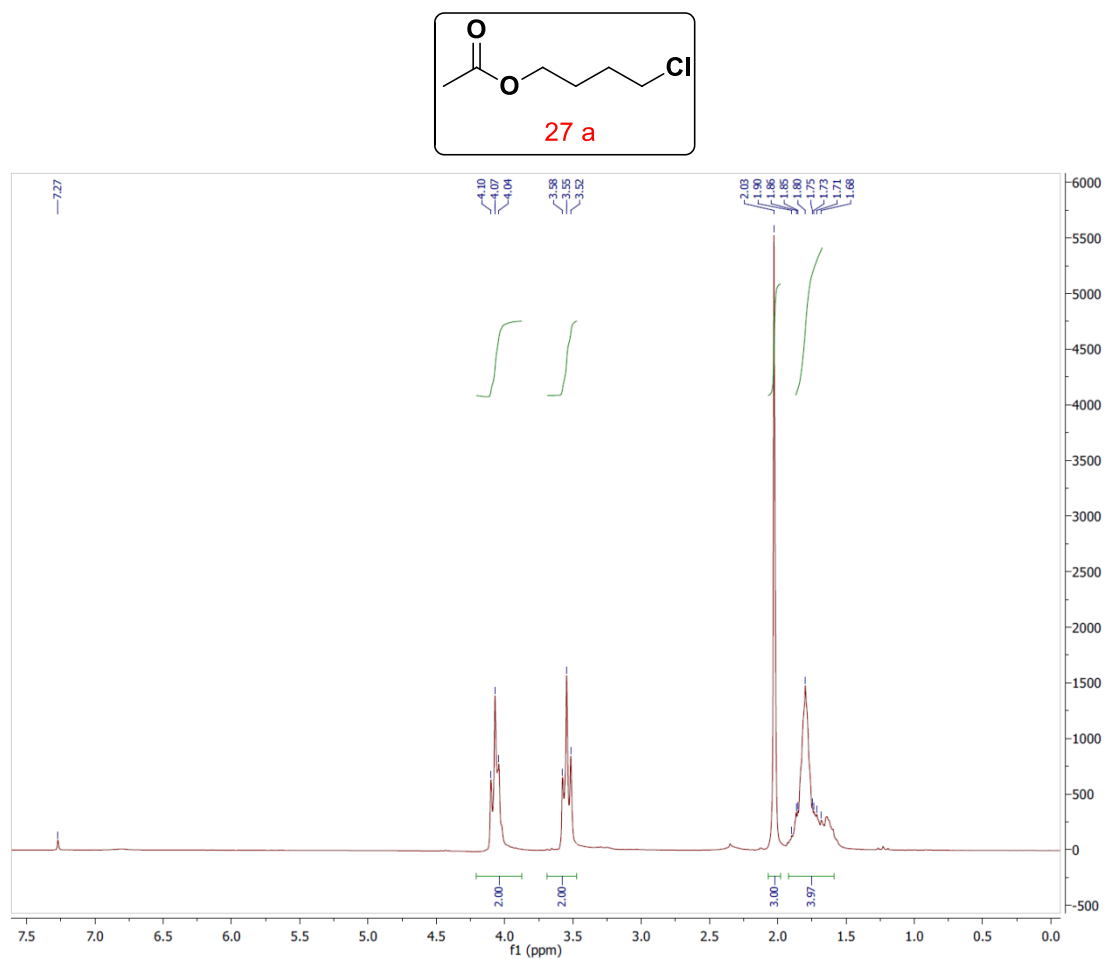


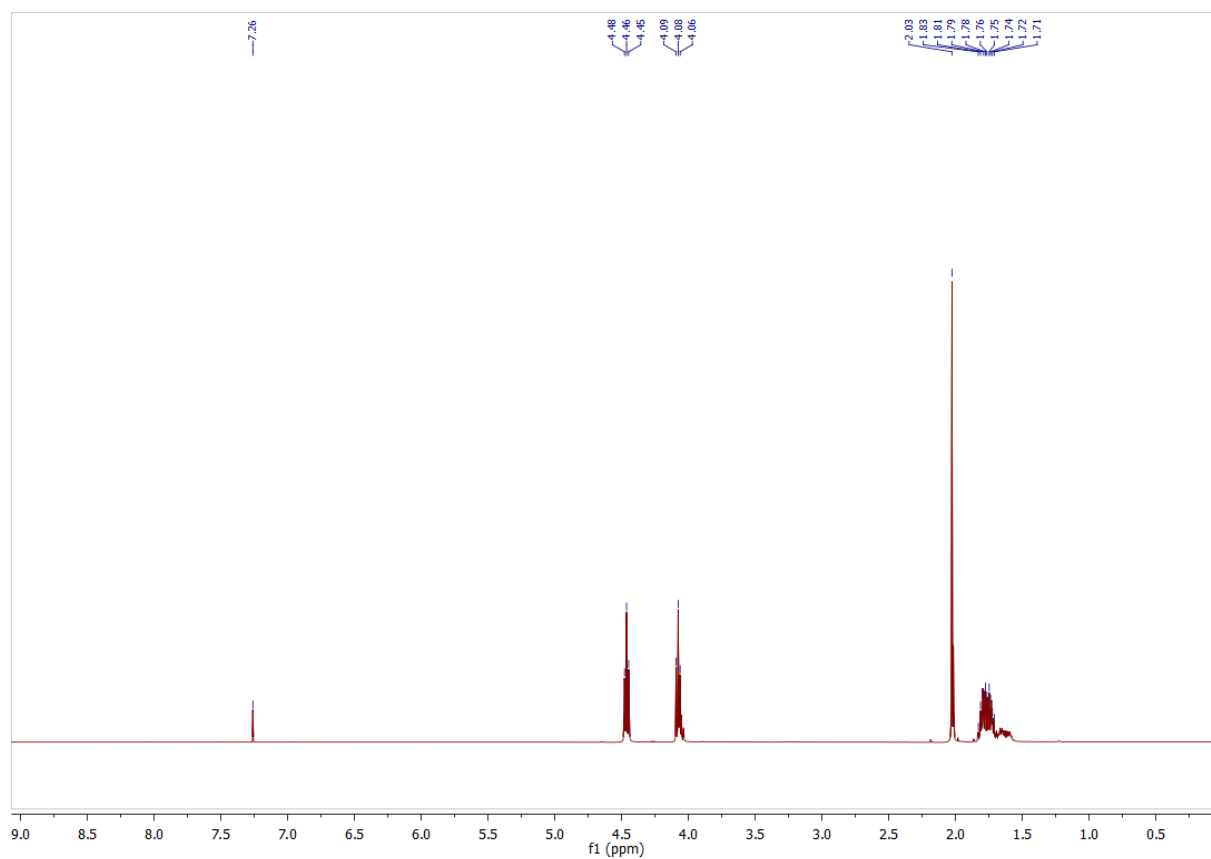
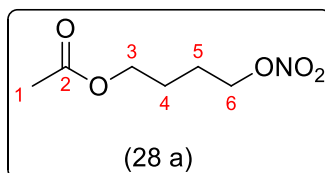
Espectro 46 - Espectro de IV (ATR) do NBD (24).

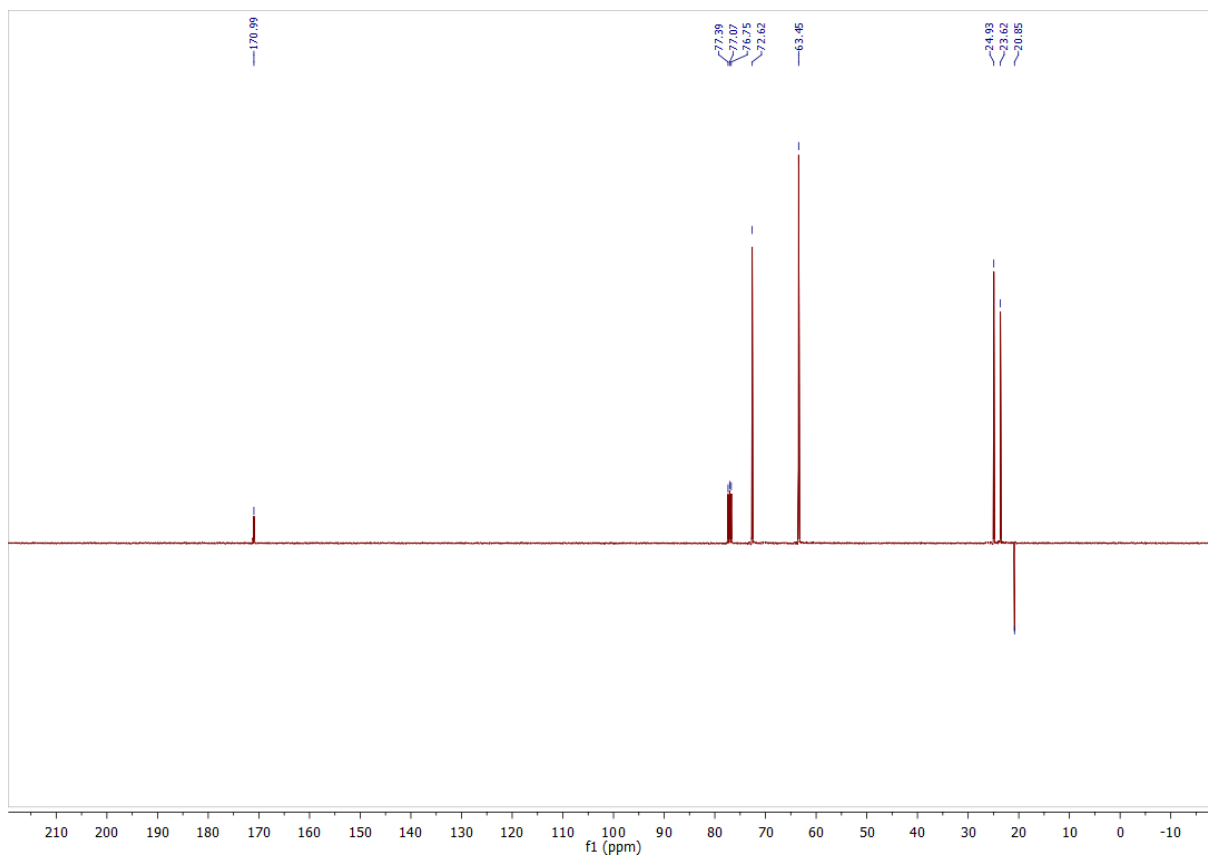
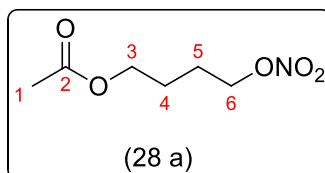


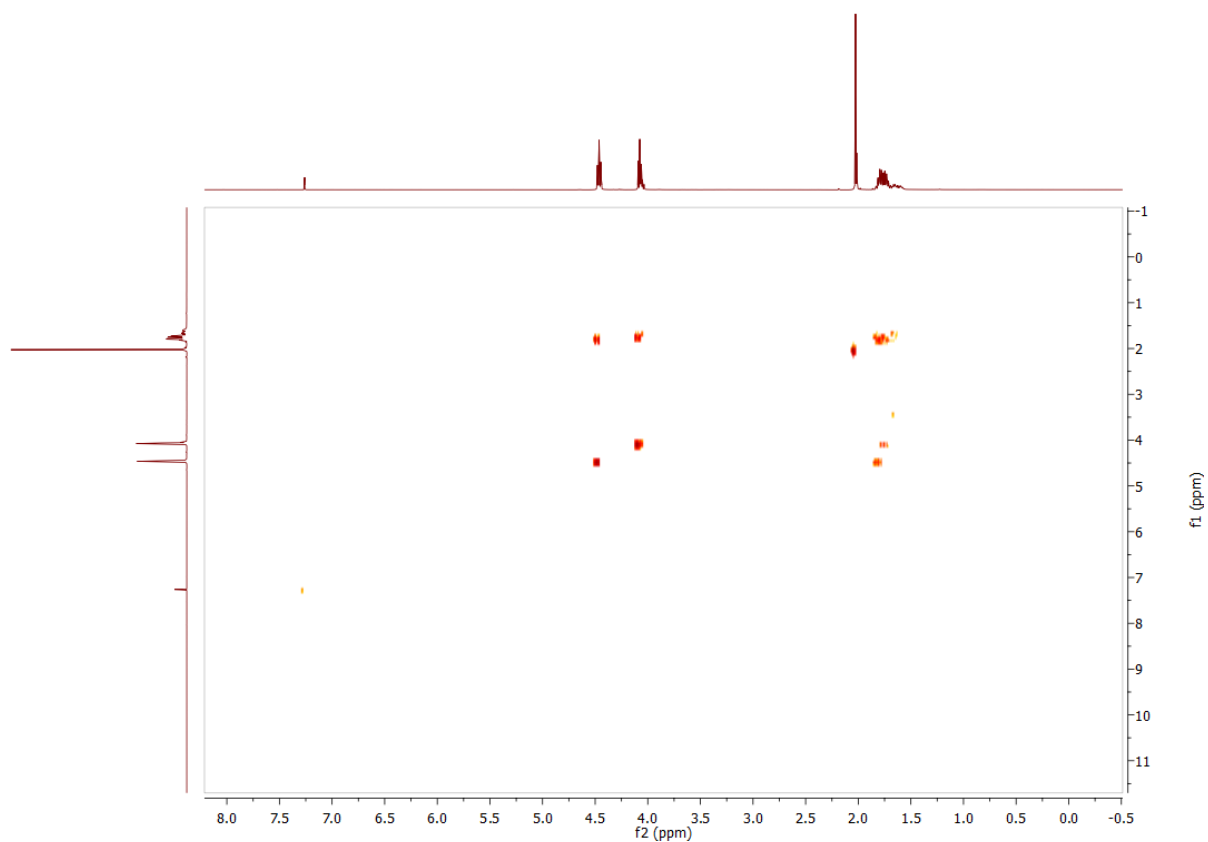
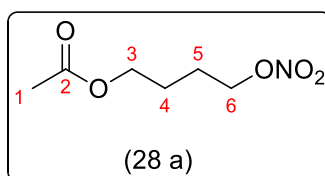
Espectro 47 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) do NBD (24)

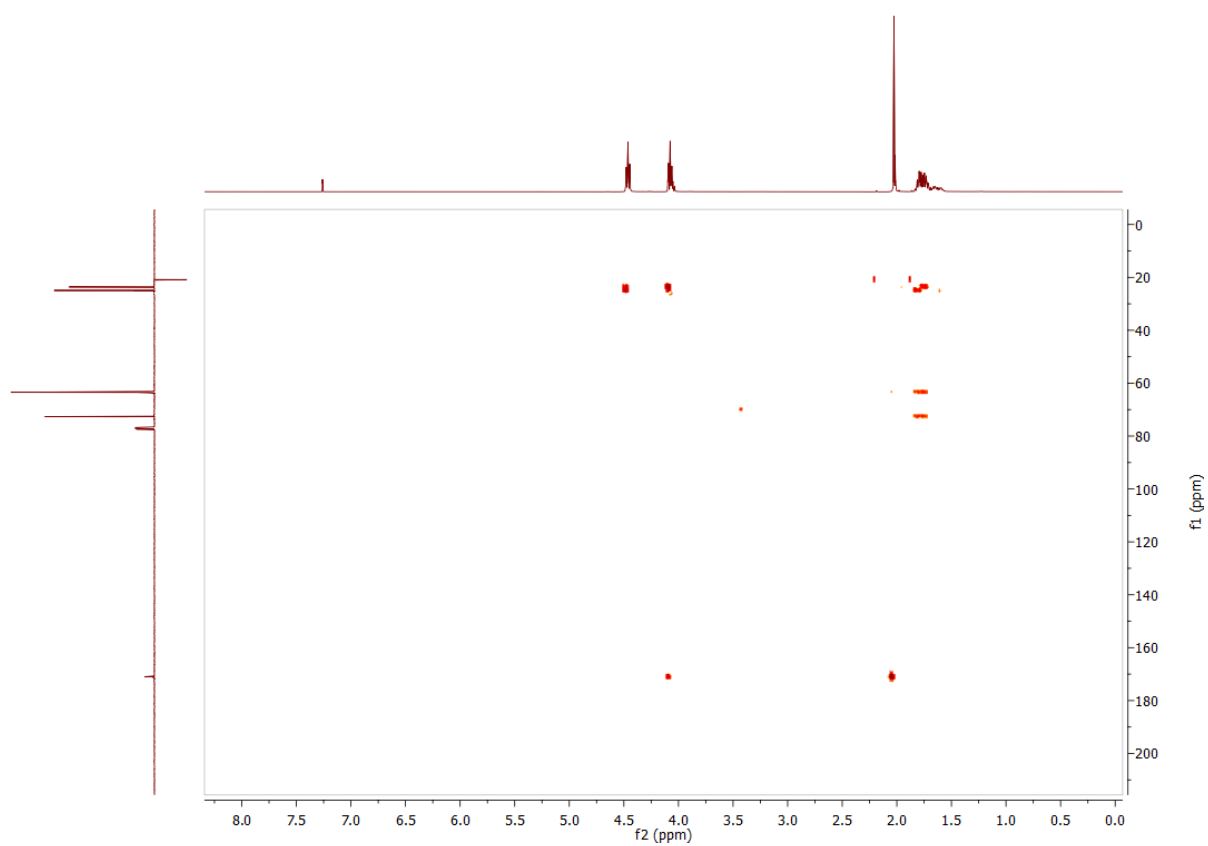
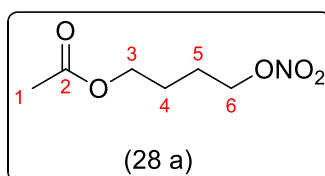
Espectro 48 - Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) do NBD (24)

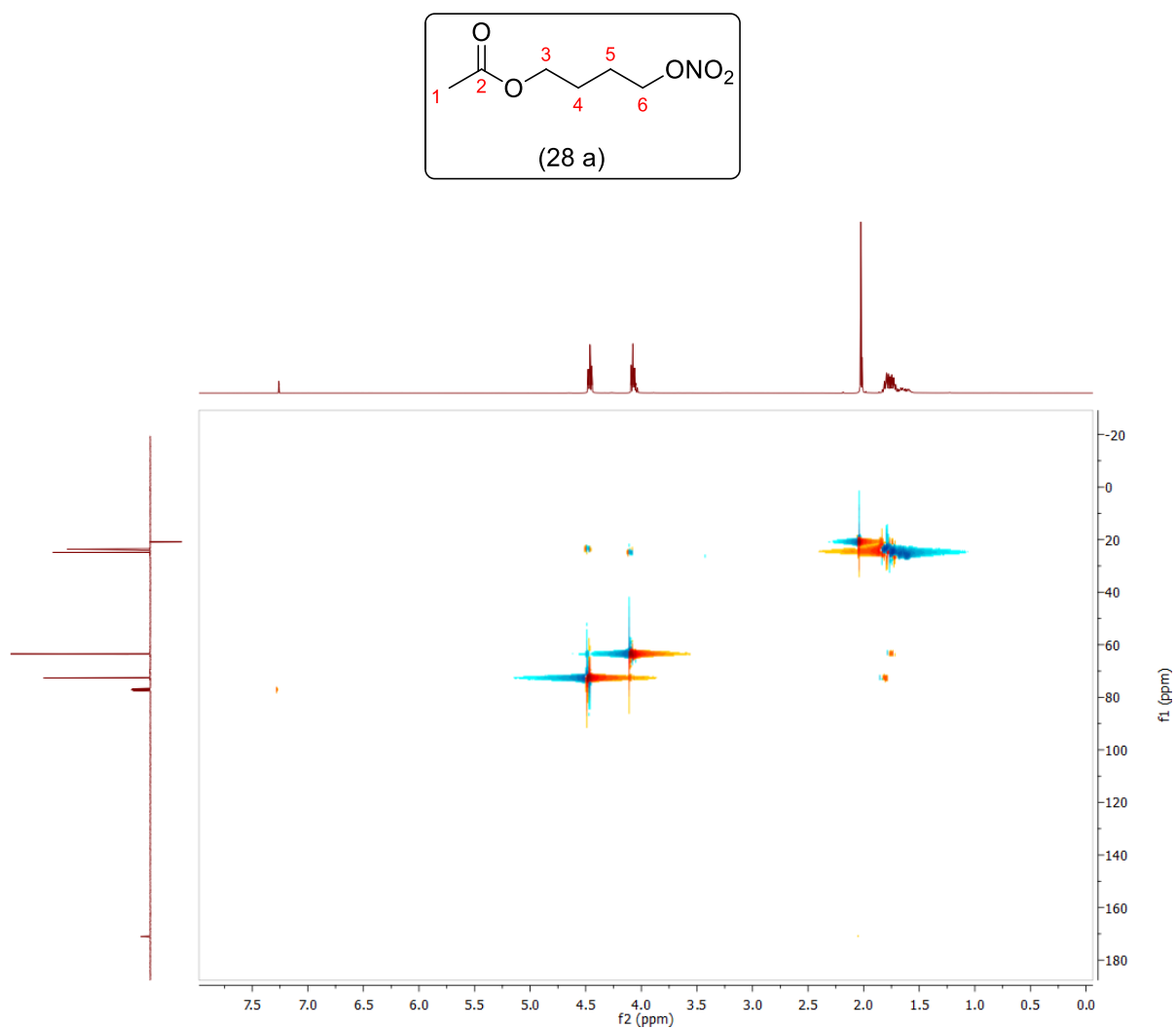
Espectro 49 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) do E1 (27a)

Espectro 50 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do NE1 (28a)

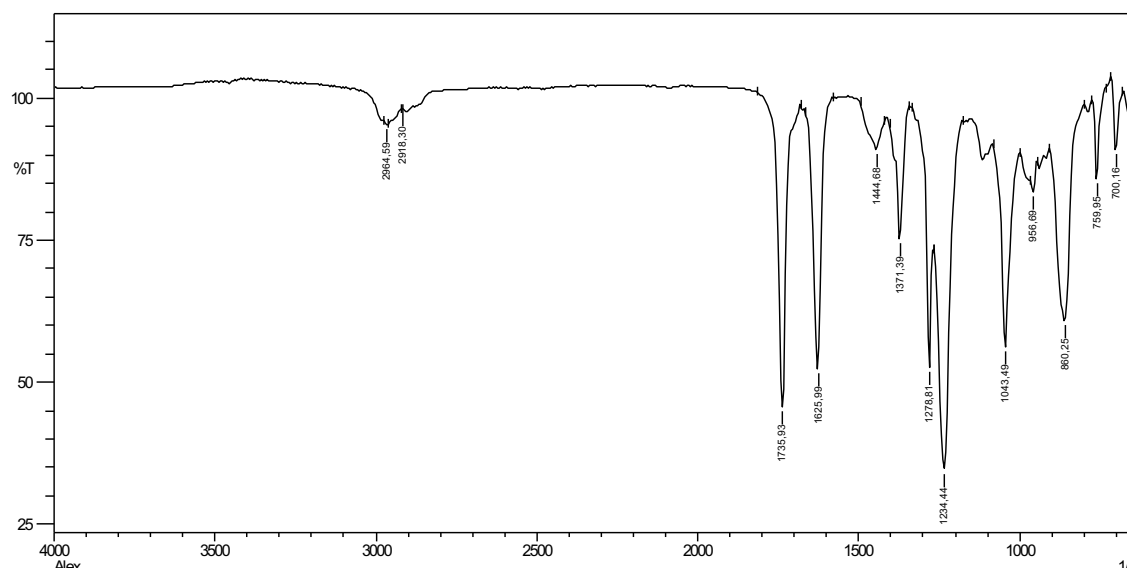
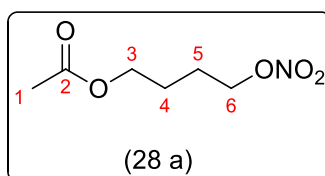
Espectro 51 - Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) do NE1 (28a)

Espectro 52 - Espectro de RMN ^1H x RMN ^1H (COSY, CDCl_3 , 400 MHz) do NE1 (28a)

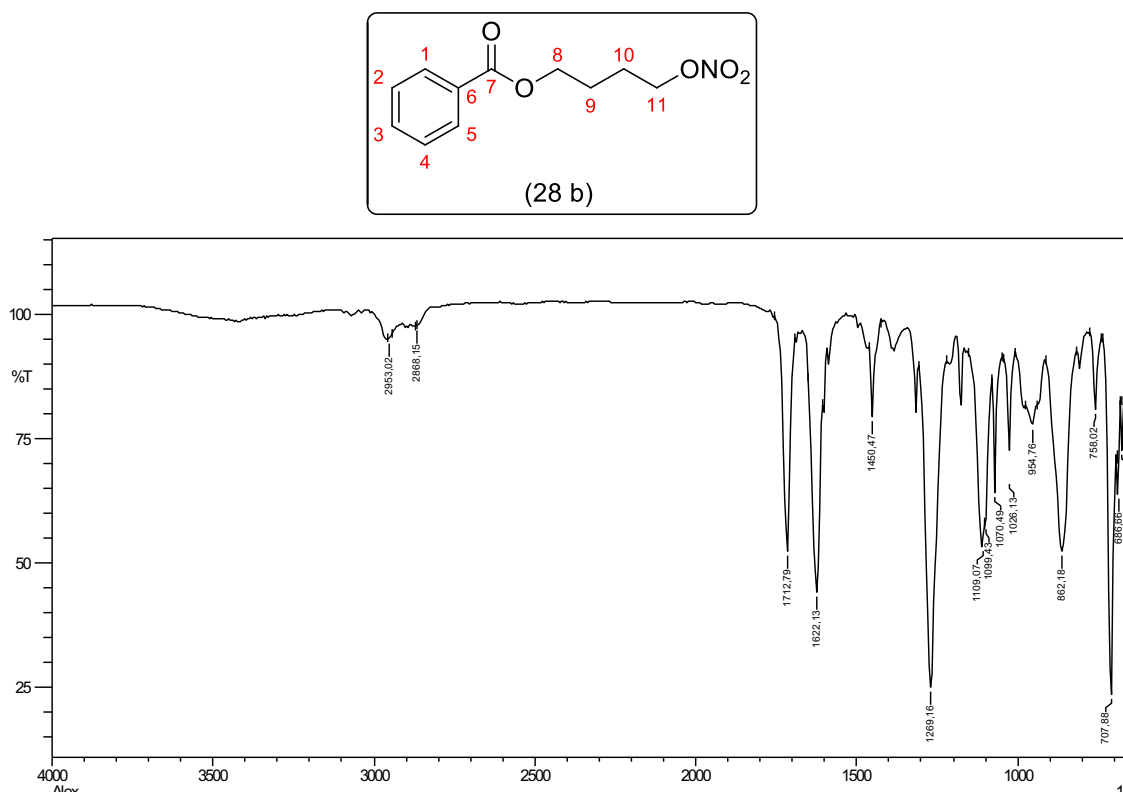
Espectro 53 - Espectro de RMN ^{13}C x RMN ^1H (HMQC, CDCl_3 , 400 MHz) do NE1 (28a)

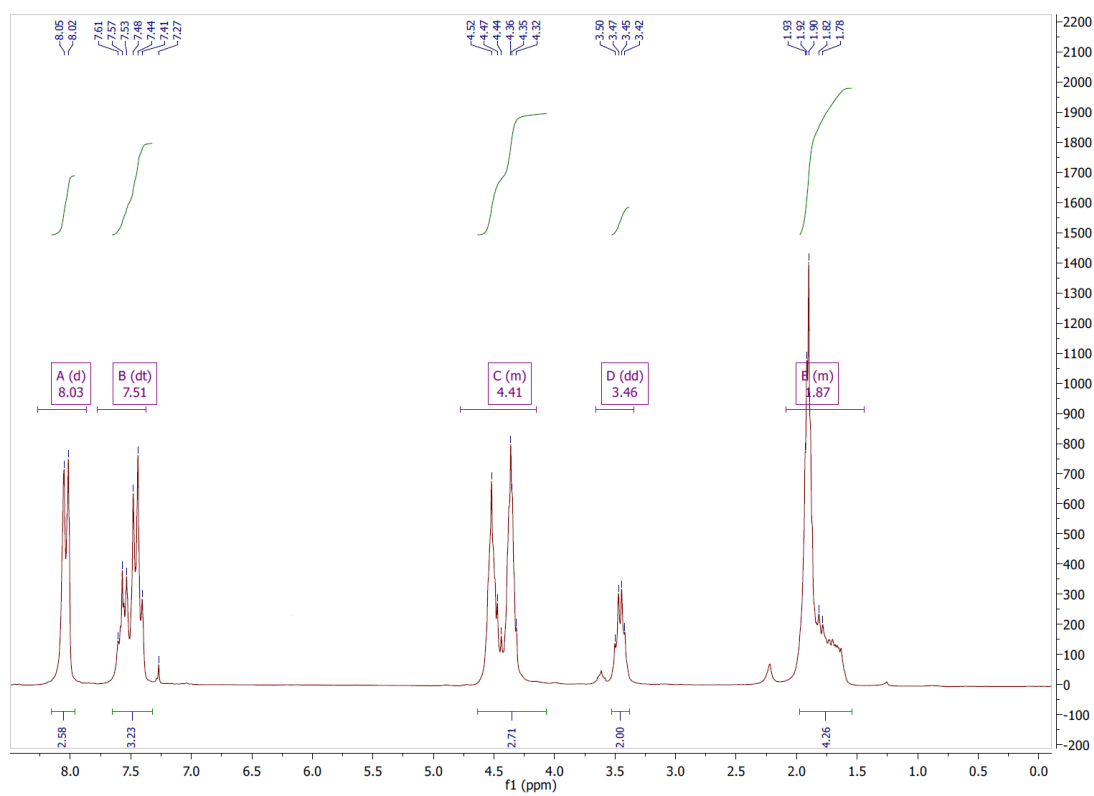
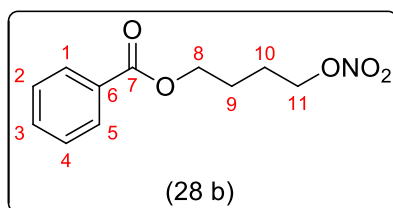
Espectro 54 - Espectro de RMN ^{13}C x RMN ^1H (HSQC, CDCl_3 , 400 MHz) do NE1 (28a)

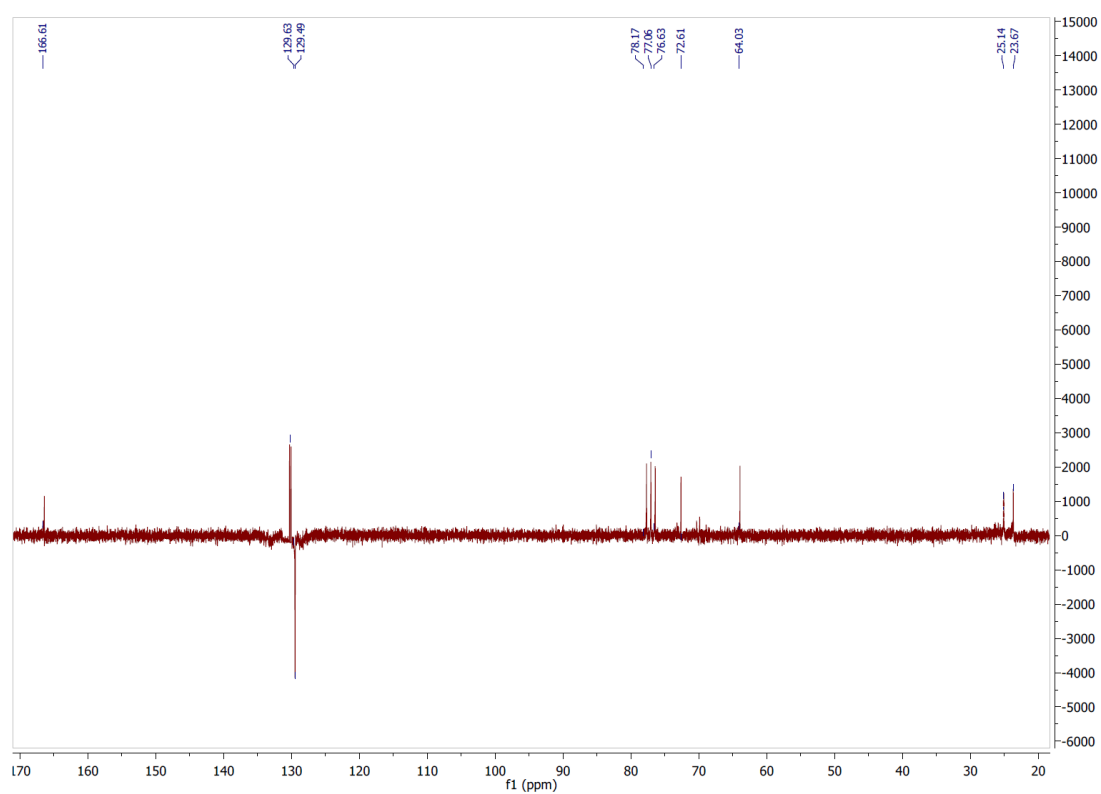
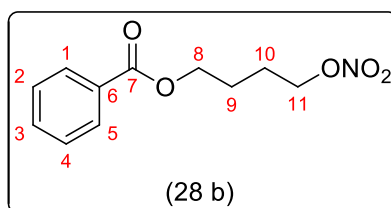
Espectro 55 - Espectro de IV (ATR) do NE1 (28a)



Espectro 56 - Espectro de IV (ATR) do NE2 (28b)



Espectro 57 - Espectro de RMN DE ^1H (CDCl_3 , 200MHz) do NE2 (28b)

Espectro 58 - Espectro de RMN DE ^{13}C (CDCl_3 , 50MHz) do NE2 (28b)

ANEXO 2: PATENTES E PUBLICAÇÕES

PATENTES

Número do depósito: BR 1020150100922

Título: Processo e Aditivo para Aumentar a Cetanagem de Combustíveis Líquidos

Data de depósito: 16/04/2015

Número do depósito: BR 10201602057

Título: Doador de óxido nítrico para o tratamento de hipertensão arterial.

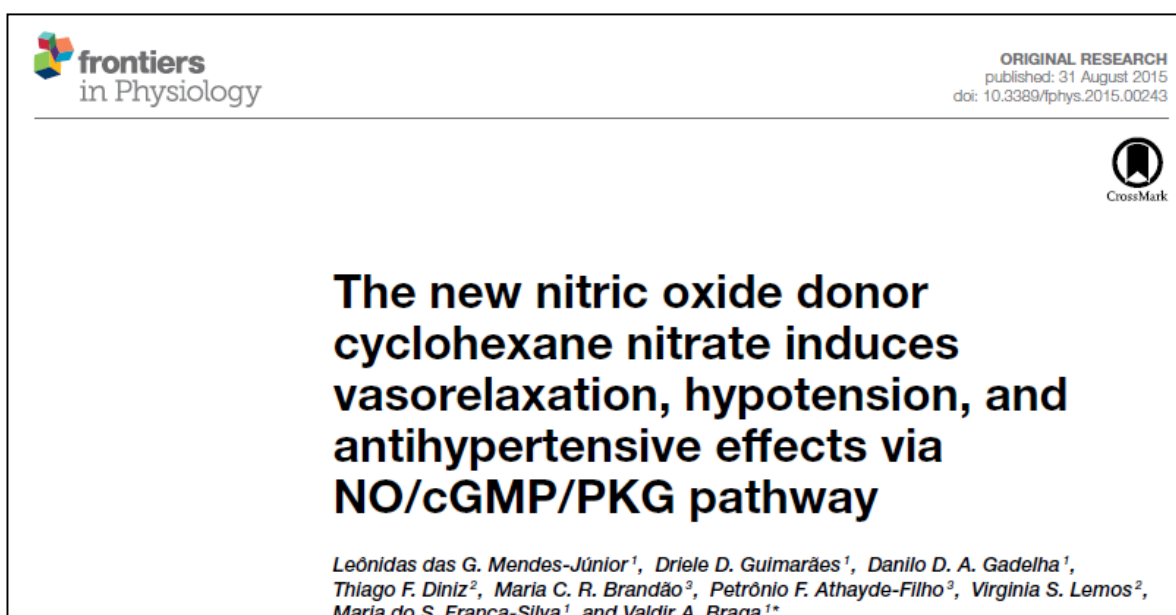
Data de depósito: 06/09/2016

Número do depósito: BR 1020170127125

Título: Diéteres antimicrobianos da glicerina.

Data de depósito: 14/06/2017

PUBLICAÇÕES





RESEARCH PAPER

Nitric oxide generation by the organic nitrate NDBP attenuates oxidative stress and angiotensin II-mediated hypertension

Correspondence Mattias Carlstrom, Department of Physiology and Pharmacology, Karolinska Institutet, Nanna Svartz Väg 2, 171 77, Stockholm, Sweden. E-mail: mattias.carlstrom@ki.se

Received 10 December 2015; **Revised** 11 March 2016; **Accepted** 2 May 2016

Suênia K P Porpino^{1,2,3}, Christa Zollbrecht^{1*}, Maria Peleli^{1*}, Marcelo F Montenegro¹, Maria C R Brandão³, Petrônio F Athayde-Filho³, Maria S França-Silva³, Erik Larsson⁴, Jon O Lundberg¹, Eddie Weitzberg¹, Erik G Persson², Valdir A Braga³ and Mattias Carlström¹

Redox Biology 13 (2017) 163–169



Contents lists available at ScienceDirect

Redox Biology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/redox



Research Paper

Synthesis and characterization of a novel organic nitrate NDHP: Role of xanthine oxidoreductase-mediated nitric oxide formation



Zhengbing Zhuge^{a,1}, Luciano L. Paulo^{b,1}, Arghavan Jahandideh^a, Maria C.R. Brandão^c, Petrônio F. Athayde-Filho^c, Jon O. Lundberg^a, Valdir A. Braga^b, Mattias Carlström^a, Marcelo F. Montenegro^{a,*}

^a Dept. of Physiology and Pharmacology, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden

^b Biotechnology Center, Federal University of Paraíba, João Pessoa, PB, Brazil

^c Department of Chemistry, Federal University of Paraíba, João Pessoa, PB, Brazil